

ANNALES

DE

L'INSTITUT PASTEUR

LA RAGE DU PIGEON

par P. REMLINGER et J. BAILLY.

La rage du coq (1) nous a incités à étudier la rage du pigeon. On ne trouve dans la littérature médicale que bien peu de renseignements relatifs à celle-ci et le pigeon a toujours passé pour convenir mal à l'expérimentation sur la rage. Hôgyes le considérait comme naturellement réfractaire. Gibier, Kraus et Clairmont, Von Löte (2) ont pu contaminer des jeunes pigeons par inoculation sous-dure-mérienne de virus de rue ou de virus fixe. Ils ont par contre échoué chez l'adulte. Inoculé après un jeûne prolongé, celui-ci serait cependant capable de contracter la rage. La rage spontanée du pigeon n'a jamais été observée. Les auteurs ont noté que la maladie expérimentale revêtait toujours la forme paralytique et qu'elle était susceptible de guérison. Et c'est à peu près tout ce qu'on sait de la rage du pigeon.

Fidèles à notre principe que le virus de rue est, à moins d'indications très spéciales, à préférer au virus fixe, nous avons

(1) REMLINGER et BAILLY, La rage du coq. Ces *Annales*, février 1929, p. 153 et Nouveaux faits relatifs à la rage du coq, Com. à l'Acad. Vétérinaire de France, octobre 1929.

(2) BABES, *Traité de la rage*. Paris 1912; Kraus, Gerlach et Schweinburg, *Lyssa bei Mensch und Tier*, Berlin et Vienne, 1926.

presque toujours employé celui-là, mais nous avons opéré sur des souches de provenances diverses et de virulences très différentes. D'autre part, nous avons eu exclusivement recours à l'inoculation intracérébrale, de beaucoup celle qui, chez les oiseaux, donne les résultats les moins inconstants. Quatre pigeons ainsi inoculés avec du virus fixe ont fourni 4 résultats négatifs. Cinquante autres pigeons, tous adultes, mais d'âge difficile à préciser, ont donné 15 résultats positifs, 3 douteux et 32 négatifs. La proportion des succès a varié beaucoup avec les virus employés et un virus roumain (1) a fourni un chiffre de réussites tout particulièrement élevé. Nous n'avons jamais observé de formes rappelant de près ou de loin la rage furieuse. La maladie a revêtu assez souvent par contre la forme paralytique ou, tout au moins, elle s'est fréquemment traduite par des troubles de l'équilibre parfois difficiles à distinguer des véritables phénomènes paralytiques. Avec le virus roumain, cette forme s'est même montrée susceptible d'évolution très rapide (mort après trois ou quatre jours de maladie), tandis qu'avec d'autres virus elle a manifesté une grande tendance à passer à l'état chronique et à se terminer par guérison. Par ailleurs, le terme de rage paralytique nous a paru un peu exagéré pour désigner certaines formes de rage du pigeon presque uniquement constituées par quelques troubles de l'équilibre. Nous désignerons ces formes sous le nom de formes frustes. C'est la fréquence de ces cas frustes et aussi l'habituelle bénignité de l'affection, sa longue durée, sa tendance très marquée à la guérison qui paraissent caractériser essentiellement la rage du pigeon et constituer le principal intérêt de son étude.

RAGE PARALYTIQUE.

Si on inocule dans le cerveau du pigeon un de ces virus particulièrement agressifs qui d'emblée tuent le lapin en huit ou neuf jours (virus renforcés) on peut, même chez l'adulte, observer, après une incubation parfois réduite à dix jours, une

(1) Virus aimablement adressé par M. le Dr Teodorascu, Directeur de l'Institut antirabique de Chisinau, qui l'a sommairement décrit (Soc. Roumaine de Biologie. Séance du 28 janvier 1929) et que nous remercions ici bien vivement.

rage à évolution rapide qui n'est pas sans analogie avec certaines rages paralytiques des mammifères.

OBSERVATION I. — *Inoculation intracérébrale de virus de rue. Dix jours plus tard, début d'une rage à évolution rapide. Troubles de l'équilibre. Difficulté de la préhension des grains. Secousses cloniques de la tête et du cou. Paralyse terminale. Mort après quatre jours de maladie. Passages positifs.*

Le 17 août, on inocule dans l'hémisphère cérébral gauche d'un pigeon 1/10 de cent. cube d'une émulsion à 1 p. 50 d'un virus de rue particulièrement agressif (virus roumain tuant le lapin en huit-neuf jours) Aucune particularité à noter jusqu'au 27 (dixième jour). A cette date, l'animal attire l'attention par sa tristesse, son attitude en boule, son indifférence à ce qui l'entoure. L'encolure rétractée, les yeux clos, il paraît somnoler. On observe en même temps une grande maladresse lors de la préhension des grains. Les coups de bec manquent le but et le pigeon est obligé de picorer quatre ou cinq fois avant de pouvoir saisir une graine. Une fois celle-ci dans le bec, elle est déglutie sans la moindre difficulté. Le lendemain, on note de la difficulté de la démarche qui est hésitante, ébrieuse et s'accompagne de faux pas, voire même de chutes. Le 29 août, les troubles de l'équilibre ont augmenté. L'oiseau hésite à se déplacer. Si on l'oblige à le faire, il n'évite les chutes sur le côté ou les culbutes en avant qu'en prenant appui sur le sol avec le bord antérieur des ailes. Apparition de secousses cloniques de la tête et du cou. Inappétence complète. Le 30 août (treizième jour), le pigeon est entièrement paralysé. Il ne peut plus se maintenir debout et repose en décubitus latéral. On le trouve mort le 31 au matin, quatorze jours après l'inoculation et après quatre jours de maladie. Aucune lésion macroscopique à l'examen de l'encéphale. Une émulsion du bulbe est inoculée sous la dure-mère d'un lapin qui présente les premiers symptômes de rage le 8 septembre et meurt le 9 (neuvième jour).

OBSERVATION II. — *Inoculation intracérébrale de virus de rue. Dix jours plus tard, début d'une rage à marche rapide. Troubles de l'équilibre. Paraplégie. Mort après quatre jours de maladie.*

Le 17 août, on inocule dans l'hémisphère cérébral gauche d'un pigeon 1/10 de cent. cube d'une émulsion à 1 p. 50 d'un virus de rue particulièrement actif (virus roumain de Chisinau). Le 27 août, au dixième jour, l'oiseau est manifestement pris. Il est triste, ne mange plus et se tient en boule dans un coin de sa cage, les plumes hérissées, la tête rentrée dans le plumage. Le lendemain, on note une grande difficulté de la démarche. Le pigeon trébuche à chaque pas. Néanmoins, il se tient encore sur ses pattes. Le 29 avril, au douzième jour, il ne vole plus, ne mange plus, et paraît atteint de paraplégie, sans addition d'aucun autre symptôme. L'appui sur les pattes est nul. L'oiseau ne se maintient que sur le bréchet et sur les ailes épanouies. Il arrive à progresser quelque peu en rampant sur le bréchet et en se servant des ailes comme de rames. Le 30 août (treizième jour), on note une aggravation considérable. La paralysie est complète. L'animal est étendu en décubitus latéral, les yeux clos, les ailes demi ouvertes. La tête ne peut même plus être supportée par l'encolure. On le trouve mort le 31 août au matin. L'autopsie de l'encéphale ne montre aucune lésion macroscopique. L'examen microscopique décèle au contraire des lésions très accentuées et très caractéristiques qui seront décrites plus loin.

OBSERVATION III. — *Inoculation intracérébrale de virus de rue. Au douzième jour, troubles de l'équilibre, impossibilité du vol. Mort après six jours de maladie. Passages positifs.*

Le 17 août, on inocule dans le cerveau d'un pigeon 1/10 de cent. cube d'émulsion à 1 p. 50 d'un virus de rue renforcé (virus Chisinau). Aucune particularité à noter jusqu'au 29 (douzième jour). Ce jour-là, l'oiseau se tient dans un coin de sa cage, roulé en boule, les plumes hérissées, somnolent et sans appétit. Il est manifestement pris. Toutefois, il se déplace encore facilement et vole normalement. Le lendemain (treizième jour) l'aggravation est manifeste. La somnolence est devenue de la stupeur. L'oiseau demeure en boule, les plumes du jabot hérissées. Par instants, le corps est secoué de tremblements. La démarche est ébrieuse, semée de chutes sur le côté et l'animal ne peut plus voler. Si on le lance dans l'espace, il retombe de suite lourdement. Les jours suivants, l'état demeure stationnaire. C'est seulement le 3 septembre (dix-septième jour) qu'on note une nouvelle aggravation. L'animal ne se déplace plus. La station a lieu sur toute l'étendue des tarses. Si on le provoque en le poussant, il trébuche plutôt que de faire un pas. Il est trouvé mort le 4 septembre au matin, dix-huit jours après l'inoculation, six jours après le début de la maladie. Aucune lésion macroscopique à l'examen de l'encéphale. Une émulsion du bulbe est inoculée sous la dure-mère d'un lapin. Premiers symptômes de rage le 12 septembre. Mort le 13 (neuvième jour).

Si au lieu d'un de ces virus particulièrement agressifs qui ne se rencontrent dans la nature qu'à l'état exceptionnel, on inocule dans le cerveau du pigeon un virus de rue normal, tuant le lapin sous la dure-mère en douze-quatorze jours, le tableau symptomatique de la maladie comme aussi sa marche, son évolution, son pronostic différent considérablement. La durée de l'incubation est plus longue. Plus longue aussi est la durée de la maladie déclarée. La mort, due à une paralysie et à une cachexie progressives, ne se produit que du huitième au dixième jour et l'affection peut même se terminer par guérison.

OBSERVATION IV. — *Inoculation intracérébrale de virus de rue. Troubles très marqués de l'équilibre. Torticolis. Difficulté de la préhension des grains. Paralysie complète des pattes. Guérison.*

Le 2 février, un pigeon reçoit dans le cerveau 1/10 de cent. cube d'une émulsion à 1 p. 50 d'un virus de rue tuant le lapin en douze jours. Aucune particularité jusqu'au vingt-quatrième jour. Le 26 février, apparition de troubles de l'équilibre. Celui-ci n'est maintenu que grâce à l'appui sur le sol des rectrices de la queue et de la pointe des ailes légèrement ouvertes. La démarche est titubante et, si on excite quelque peu l'oiseau, il trébuche.

Le 1^{er} mars, on note une forte aggravation. La tête est déviée vers la gauche dans une attitude irréductible. Même au repos, l'équilibre est difficilement maintenu. La marche n'est qu'une suite de chutes sur le côté ou en avant.

4 mars. La station est très difficile et n'a lieu qu'avec l'appui des tarses.

sur toute leur longueur, et avec celui des ailes et des plumes de la queue. Difficulté de la préhension des grains. La tête toujours déviée vers la gauche ne peut être mise dans la rectitude. Les jours suivants, l'état demeure identique; la station n'est possible que grâce à l'appui des tarses, des ailes et des plumes de la queue. La démarche n'est qu'une suite de chutes. L'état général est cependant bon et l'oiseau s'alimente.

Une nouvelle aggravation se produit vers le 23 mars. La paralysie des pattes est complète; l'appui du corps n'a lieu que sur le bréchet, les ailes et la queue.

Dans les premiers jours d'avril on note encore que la paralysie des pattes est complète et que le corps ne repose aucunement sur elles. Fréquemment l'oiseau est trouvé en décubitus latéral et on constate qu'il ne peut pas tout seul se remettre d'aplomb. Même dans cette position cependant, il s'alimente en saisissant les grains qu'on met à sa portée.

A partir du 10 avril, le pigeon se remet peu à peu. La déviation de la tête disparaît la première, puis c'est la paralysie des pattes. L'oiseau retrouve ensuite son équilibre au repos et la démarche est de moins en moins ébrieuse. On n'observe plus de faux pas que si le pigeon accélère son allure. Ceux-ci finissent à leur tour par ne plus se produire. Vers le 25 avril, l'oiseau peut être tenu pour complètement guéri.

OBSERVATION V. — Inoculation intracérébrale de virus de rue. Au dix-septième jour, troubles de l'équilibre, difficulté du vol et de la préhension des grains. Paralysie progressive et cachexie. Mort après huit jours de maladie. Passages positifs.

Le 8 janvier, un pigeon reçoit dans le cerveau 1/40 de cent. cube d'une émulsion à 1 p. 50 d'un virus de rue tuant le lapin en onze jours. Le 25 (dix-septième jour), il présente de l'incertitude de la démarche, de la difficulté à prendre son vol et, une fois réfugié au fond de la volière, de la tendance à en escalader les parois en s'aidant des pattes et des ailes. Le surlendemain, on note une aggravation très nette. La démarche est fortement titubante. Au repos, l'oiseau se tient accroupi sur toute l'étendue des tarses. Il cherche à manger et il y parvient mais seulement après avoir picoré trois ou quatre fois le même grain, ce qui forme contraste avec l'habileté avec laquelle les pigeons saisissent d'ordinaire sur le sol la moindre graine. Le vol est possible mais lourd.

29 janvier. L'oiseau qui ne lustre plus ses plumes a un aspect sale. Il se tient en permanence accroupi sur le sol. La démarche est de plus en plus difficile. Elle s'accompagne de faux pas et de chutes en arrière ou en avant. Le vol est lourd et maladroit.

30 janvier. Le pigeon est de plus en plus sale. Il commence à se cachectiser. Les déplacements n'ont lieu que si on contraint l'oiseau à les effectuer. L'équilibre est instable; les chutes sont incessantes.

1^{er} février. La paralysie a complètement aboli l'usage des pattes. L'oiseau se tient dans l'attitude du pigeon qui couve; il repose sur le bréchet, sur toute l'étendue des tarses, sur la queue et même sur les ailes à demi épanouies. Le moindre choc lui fait perdre l'équilibre et détermine des chutes sur le côté. Le pigeon est trouvé mort le 2 février au matin (huitième jour de la maladie). Une émulsion du cerveau est inoculée par cloutage à un lapin (premiers symptômes de rage le neuvième jour; mort le onzième) et à un cobaye (premiers symptômes de rage le neuvième jour. Mort le dixième).

OBSERVATION VI. — *Inoculation intracérébrale de virus de rue. A partir du dix-huitième jour, opisthonas, troubles de l'équilibre, paralyse et cachexie progressives. Mort au dixième jour de la maladie. Présence de corps de Négri et des lésions anatomo-pathologiques caractéristiques de la rage. Passages négatifs (Neuro-infection mortelle auto-stérilisable de Levaditi).*

Le 8 janvier, un pigeon reçoit dans le cerveau $1/10$ de cent. cube d'une émulsion à 1 p 50 de virus de rue tuant le lapin en onze jours. Le 26 janvier, au dix-huitième jour, l'oiseau attire l'attention par une sorte d'éréthisme généralisé. Il piétine sur place, le cou en opisthonas, les plumes de la queue roulées. Même état les jours suivants, mais, en plus de l'éréthisme et de l'attitude contractée, on note de l'hésitation de la démarche et de la maladresse du vol. L'oiseau va buter brutalement dans les obstacles sans pouvoir les éviter et tombe.

29 janvier. Les rectrices de la queue sont étalées comme si l'oiseau faisait la roue. La démarche est difficile; les chutes en avant et en arrière fréquentes. L'équilibre n'est maintenu au cours des déplacements que par des efforts pénibles et avec l'aide des ailes qui prennent appui sur le sol.

30 janvier. Nouvelle aggravation. L'équilibre, même au repos, n'est maintenu qu'avec peine. La démarche n'est plus qu'une suite de culbutes en avant, en arrière et sur le côté.

31 janvier. L'encolure est fortement rejetée en arrière et déviée à droite dans une attitude irréductible. L'équilibre est maintenu à grand-peine, l'appui ayant lieu sur toute l'étendue des tarses. Le vol est impossible.

2 février. Même au repos, on observe de la titubation, des chutes sur le côté et des culbutes. L'oiseau commence à se cachectiser. Les jours suivants, on assiste à une paralysie et à une cachexie progressives. L'animal est trouvé mort le 5 février au matin. Aucune lésion macroscopique à l'examen de l'encéphale. Une émulsion du bulbe est inoculée sous la dure-mère d'un lapin qui est demeuré vivant et bien portant, alors que l'examen anatomo-pathologique du système nerveux décelait la présence de corps de Négri et l'existence des lésions caractéristiques de la rage des oiseaux. De ces lésions les plus importantes se rencontrent classiquement dans le cervelet. L'état congestif de l'organe se traduit par de la réplétion des fines ramifications des capillaires et par des hémorragies. Celles-ci sont peu étendues mais très nombreuses. Elles sont localisées dans la zone médullaire. Les veinules et les artérioles sont toutes entourées de manchons périvasculaires très développés, formés de lymphocytes épanchés dans les espaces lymphatiques. Il s'y mêle quelques rares polynucléaires. L'infiltration diapédétique du parenchyme semble partir des vaisseaux et s'épuiser au fur et à mesure qu'on s'éloigne d'eux. Elle n'offre aucun foyer électif. Les mêmes lésions se retrouvent dans le cerveau, dans la partie postéro-inférieure de l'organe. Elles sont cependant beaucoup moins accusées que dans le cervelet. Les hémorragies en particulier sont rares. L'état inflammatoire ne se traduit que par les manchons périvasculaires et une légère infiltration leucocytaire du parenchyme cérébral au voisinage immédiat des artérioles et des veinules. Mais, alors que les neurones cérébelleux ne montrent aucune lésion, on rencontre de nombreuses cellules pyramidales cérébrales dont le protoplasma renferme des corpuscules de Négri. Ces formations sont ovoïdes et ont de 5 à 10 μ de diamètre; elles sont fortement éosinophiles, quelque peu granuleuses et ne présentent, par rapport aux lésions similaires des mammifères rabiques, aucune particularité qui doive retenir l'attention.

Cette observation est exactement superposable à une observation de rage du coq que nous avons publiée (1) par ailleurs. Elle tire son principal intérêt de ce que, le diagnostic de rage porté pendant la vie ayant été confirmé par la présence de corps de Négri et l'existence des lésions anatomo-pathologiques caractéristiques de la rage des oiseaux, les passages par le cerveau du lapin, effectués avec le bulbe, ont fourni un résultat négatif. On sait que MM. Levaditi, Sanchez Bayarri et Schoen (2) et aussi MM. Marie et Mutermilch (3) ont vu des chiens et des lapins inoculés avec du virus fixe succomber après avoir présenté des symptômes rabiques ou rabiformes, l'examen anatomo-pathologique déceler des lésions cérébrales analogues à celles de la rage et les passages donner cependant des résultats négatifs. M. Levaditi a émis l'hypothèse que, dans ces cas, les réactions de défense de l'organisme parvenaient à stériliser le névraxe, mais, par leur localisation et leur intensité, déterminaient néanmoins la mort (neuro-infection mortelle auto-stérilisable). Cette auto-stérilisation du virus fixe dans le système nerveux central du lapin et du chien nous avait laissés un peu sceptiques (4). Nous avons fait remarquer que les oiseaux qui opposent au virus rabique une grande résistance étaient à préférer pour ces expériences au chien et au lapin trop réceptifs, et aussi que le virus de rue présentait moins de causes d'erreur et offrait plus de garanties que le virus fixe. Les corps de Négri sont considérés par la majorité des auteurs comme la signature par excellence de la défense de la cellule nerveuse contre l'envahissement du microbe rabique. Dès lors leur présence dans un cerveau dont les passages seraient demeurés négatifs devait, pensions-nous, apporter, en faveur de l'auto-stérilisation, un témoignage qu'on ne saurait rencontrer dans les expériences entreprises avec le virus fixe. Ces conditions, ces desiderata se trouvent pleinement remplis, semble-t-il,

(1) REMLINGER et BAILLY, Nouvelles observations relatives à la rage du coq. *Acad. vétérinaire de France*, octobre 1929.

(2) LEVADITI, SANCHEZ-BAYARRI et SCHOEN, Neuro-infections mortelles auto-stérilisables. *Soc. de Biologie*, 24 mars 1928, p. 911-914.

(3) MARIE et MUTERMILCH, Nouveaux essais de vaccination contre la rage. *Soc. de Biologie*, 5 mai 1928, p. 1314-1315.

(4) P. REMLINGER, La rage peut-elle prendre place parmi les neuro-infections mortelles auto-stérilisables? *Soc. de Biologie*, 9 juin 1928, p. 118-120.

dans l'observation de rage du pigeon qui précède comme dans l'observation de rage du coq que nous avons publiée antérieurement. L'une et l'autre établissent fort bien qu'à titre exceptionnel, il est vrai, le virus rabique peut être détruit dans le système nerveux central par les forces défensives de l'organisme mais cependant déterminer des lésions réactionnelles qui par leur intensité et leur localisation entraînent néanmoins la mort de l'animal. La légitimité de la conception si originale de M. Levaditi et de son école se trouve pleinement confirmée.

RAGE FRUSTRÉE.

C'est l'appellation de rage frustre qui paraît convenir le mieux à ces cas où la maladie du pigeon se traduit uniquement par des troubles de l'équilibre, de la difficulté du vol et qui se terminent par la guérison. Les observations suivantes sont très caractéristiques de cette forme de rage dont la bénignité contraste si vivement avec la gravité de la maladie chez la plupart des espèces animales.

OBSERVATION VII. — *Inoculation intracérébrale de virus de rue. Difficulté du vol. Légers troubles de l'équilibre. Guérison.*

Le 12 décembre, un pigeon reçoit dans le cerveau après cloutage 1/10 de cent. cube d'une émulsion à 1 p. 50 de virus de rue tuant le lapin en dix jours. Le 31 (dix-neuvième jour), on remarque que le vol est plus lourd, plus maladroit que chez les oiseaux normaux. Le pigeon paraît avoir hâte de se poser. Dès qu'il l'a fait, il éprouve une certaine difficulté à prendre l'équilibre statique et n'y parvient qu'après plusieurs oscillations du corps d'avant en arrière. Les jours suivants, on n'observe aucun symptôme autre que de la lourdeur du vol et quelques troubles de l'équilibre lorsque l'oiseau se pose. Le 5 janvier, on note une légère aggravation. Le pigeon refuse de s'envoler et se laisse saisir à la main plutôt que de le faire. Dès le lendemain, l'état s'améliore. L'oiseau se remet à voler. Au poser, il présente seulement un peu d'étourdissement. Il ne reprend son équilibre statique qu'après une légère hésitation. Les jours suivants, l'amélioration s'accroît rapidement. Vers le 15 janvier, le pigeon peut être considéré comme complètement guéri.

OBSERVATION VIII. — *Inoculation intracérébrale de virus de rue. Troubles de l'équilibre. Tremblement. Amélioration, puis rechute suivie de guérison.*

Le 1^{er} février, un pigeon reçoit dans l'hémisphère gauche 1/10 de cent. cube d'une émulsion épaisse de virus de rue tuant le lapin en douze jours. Le 20 (dix-neuvième jour), l'animal paraît pris. La démarche est difficile, l'allure à la fois sautillante et ébrieuse. Il présente en outre des crises intermittentes au cours desquelles le corps tout entier est agité de tremble-

ments. L'état général n'est pas atteint et l'oiseau s'alimente normalement. Même état les jours suivants : troubles de l'équilibre et tremblement généralisé à tout le corps mais intermittent.

Le 27 février, on note un peu d'aggravation. Si on excite l'oiseau, il se porte en avant, accélère son allure et trébuche. Il paraît courir après son centre de gravité jusqu'à ce qu'après quatre ou cinq pas il perde l'équilibre et tombe sur son bec. Il continue de s'alimenter.

Dans les premiers jours de mars, il se produit une amélioration progressive. La démarche est plus assurée quoique demeurant encore un peu hésitante. Bientôt les troubles morbides se réduisent à quelques faux pas qui finissent même par n'avoir lieu que si l'oiseau accélère son allure. Une petite rechute a lieu vers le 15 mars, caractérisée par des chutes plus fréquentes et même de véritables culbutes. Elle ne dure que quelques jours et la maladie reprend ensuite sa marche vers une complète guérison.

OBSERVATION IX. — *Inoculation intracérébrale de virus de rue. Au dix-septième jour, hésitation de la démarche; lourdeur puis impossibilité du vol. Guérison.*

Le 8 janvier, un pigeon reçoit dans le cerveau 1/10 de cent. cube d'un virus de rue tuant le lapin en onze jours. Il attire l'attention le 23 par un peu d'hésitation de la démarche qui est titubante et, si on cherche à le saisir, par de la paresse à prendre le vol. Pas de chutes. Si on excite l'oiseau, il se réfugie dans le fond de la volière et ne paraît pas s'apercevoir de la paroi qu'il cherche à escalader en s'aidant des pattes et des ailes. Même état le lendemain. Le surlendemain, l'état s'est aggravé. La démarche fortement ébrieuse s'accompagne de chutes sur le côté. Le vol est possible, mais il est lourd et maladroit. Même état les jours suivants.

1^{er} février. Le vol n'est plus possible. L'oiseau se laisse saisir plutôt que de chercher à s'envoler. Si on le lance dans l'espace, il retombe lourdement. L'état demeure stationnaire pendant quelques jours puis l'oiseau se remet à voler; la démarche est de moins en moins hésitante. Vers le 15 février le pigeon peut être considéré comme entièrement guéri.

OBSERVATION X. — *Inoculation intracérébrale de virus de rue. Au dix-huitième jour, démarche hésitante; troubles de l'équilibre. Guérison.*

Le 2 février, un pigeon reçoit dans le cerveau après trépanation 1/10 de cent. cube d'une émulsion à 1 p. 50 de virus de rue tuant le lapin en douze jours. Le 28, au dix-huitième jour, la démarche est fortement ébrieuse. A chaque foulée, l'oiseau tombe sur le côté ou culbute en arrière mais il se redresse aussitôt. Les jours suivants, les troubles de l'équilibre sont de plus en plus marqués. L'oiseau se tient immobile et ne se déplace que si on l'y oblige. La démarche est sautillante et l'équilibre n'est maintenu qu'au prix de grands efforts et après de nombreuses oscillations. Le vol toutefois est normal et l'alimentation s'effectue comme si de rien n'était.

Le 26 février, on note que le pigeon se déplace plus facilement, mais que la démarche est toujours ébrieuse. De jour en jour, celle-ci devient ensuite plus facile. Le 10 mars, on considère la guérison comme complète.

OBSERVATION XI. — *Inoculation intracérébrale de virus de rue. Troubles de l'équilibre. Très grande amélioration puis rechute d'une durée de quelques jours et guérison complète.*

Le 2 février, un pigeon reçoit dans le cerveau, après trépanation, 1/10 de

cent. cube d'émulsion à 1 p. 50 d'un virus de rue tuant le lapin en douze jours. Le 22, au vingtième jour, l'oiseau présente un peu d'instabilité de l'équilibre au repos et une assez forte hésitation de la démarche devenue ébrieuse et titubante. Même état les jours suivants. La maladie se traduit uniquement par des troubles de l'équilibre.

Le 1^{er} mars, légère aggravation. Le corps est secoué de tremblements. L'équilibre est constamment menacé même au repos où l'appui a lieu sur les plumes épanouies de la queue. La démarche est toujours ébrieuse. Après quelques jours pendant lesquels l'état est stationnaire, une amélioration survient et la démarche est plus assurée. De temps en temps seulement, si l'allure est un peu accélérée, un faux pas se produit. Au début d'avril, alors que l'oiseau paraissait en excellente santé, une rechute a lieu. L'animal trébuche à nouveau; il se précipite en avant comme entraîné par le poids de sa tête et bute dans tous les obstacles. Cet état ne dure guère que trois jours. L'animal reprend ensuite son allure normale. Guérison complète.

L'atténuation des symptômes et la tendance à la guérison si manifestes dans ces observations forment un tel contraste avec la gravité habituelle du pronostic de la rage qu'un doute pouvait être conçu sur la légitimité, dans ces formes frustes, du diagnostic posé. L'étude de la rage du coq nous avait déjà montré qu'en pareil cas ces scrupules ne reposaient sur aucun fondement. Nous avons tenu néanmoins à sacrifier un pigeon présentant des symptômes de rage particulièrement atténués, et à faire avec son bulbe des passages par le cerveau du lapin.

OBSERVATION XII. — *Inoculation intracérébrale du virus de rue. 22 jours plus tard, démarche vacillante; troubles de l'équilibre. Aucun autre symptôme. Sacrifice de l'animal au troisième jour de la maladie. Passages positifs.*

Le 2 février, un pigeon reçoit dans le cerveau 1/10 de cent. cube d'une émulsion à 1 p. 50 d'un virus de rue tuant le lapin en douze jours. Aucune particularité à noter jusqu'au vingt-deuxième jour. Le 24 février, la démarche est vacillante, ébrieuse. Si on force l'animal à accélérer son allure, il trébuche. Même état le lendemain. Le surlendemain, on note que même au repos l'équilibre est instable. L'oiseau arrive cependant à le maintenir après quelques oscillations antéro-postérieures. Un peu de hérississement des plumes. Aucun autre symptôme. Le 27, vingt-cinq jours après l'inoculation, trois jours après le début de la maladie, on se décide à sacrifier l'animal afin de bien établir si cette symptomatologie si fruste relève ou non de l'infection rabique. A l'autopsie, on ne trouve aucune lésion macroscopique de l'encéphale. Une émulsion du bulbe est inoculée sous la dure-mère d'un lapin. Il présente onze jours plus tard les premiers symptômes de la rage et succombe le lendemain.

La rage du pigeon est certainement, avec la rage du coq, celle où les formes frustes, atténuées, réduites à quelques troubles de l'équilibre ou à quelques phénomènes paralytiques

simplement ébauchés : hésitation de la démarche, lourdeur du vol, etc., sont les plus fréquentes, celle aussi où la tendance à la chronicité et à la guérison est la plus marquée. Il ne fait cependant aucun doute que ces formes atténuées et curables ne soient bien des formes de rage, car, si on sacrifie les animaux et qu'avec leur bulbe on effectue des passages par le lapin, le résultat des inoculations est invariablement positif.

SYMPTOMATOLOGIE GÉNÉRALE.

Si de ces observations on cherche à tirer un tableau d'ensemble de la maladie, on voit tout d'abord qu'à la suite de l'inoculation intracérébrale de virus de rue, l'incubation — contrairement à ce qui se passe chez le coq où elle peut être très courte (huit jours) ou, au contraire, extrêmement prolongée (cent cinq jours), — a une fixité remarquable puisqu'elle n'a évolué qu'entre dix et vingt-quatre jours. La maladie est essentiellement caractérisée par des troubles de l'équilibre qu'il est parfois assez difficile de différencier des phénomènes paralytiques. Le début de l'affection est presque toujours brusque. L'animal attire tout à coup — un matin généralement — l'attention par sa démarche hésitante, ébrieuse, titubante et en même temps par la lourdeur et la maladresse de son vol. Bientôt les symptômes s'accroissent. L'animal fait en marchant, surtout si on le force à accélérer quelque peu son allure, de nombreux faux pas, voire de véritables culbutes en arrière, en avant et sur le côté. La paresse à prendre le vol peut devenir une impossibilité absolue. Le pigeon se laisse saisir à la main plutôt que de s'envoler et, lancé dans l'espace, il retombe aussitôt. A moins qu'on n'ait employé un virus particulièrement agressif, la maladie a une tendance naturelle et très marquée à la guérison. Les choses peuvent donc en rester là et l'affection rétrocéder plus ou moins rapidement. Dans les formes graves, les troubles de l'équilibre existent même au repos. La station debout n'est maintenue que moyennant des efforts pénibles et avec l'aide des ailes prenant appui sur le sol. Parfois il existe une paralysie complète des pattes et le pigeon se tient accroupi, dans l'attitude d'un oiseau qui couve, sur toute l'étendue des tarses, le bréchet, les rectrices de la queue et les ailes à demi

épanouies. La marche n'est plus qu'une suite de chutes en avant, en arrière ou sur les côtés. Il arrive parfois que l'oiseau se précipite en avant comme entraîné par le poids de sa tête et qu'il aille buter brutalement dans les obstacles sans pouvoir les éviter. On peut le voir alors chercher à escalader, en s'aidant des pattes et des ailes, les parois de sa cage qu'il ne paraît pas apercevoir. Même dans ces formes graves, l'oiseau continue le plus souvent à s'alimenter. Tombé sur le côté et ne pouvant plus se relever, il saisit encore les graines qui se trouvent à sa portée. Quelquefois la préhension de celles-ci est difficile. Le pigeon est obligé de picorer quatre ou cinq fois avant de parvenir à ses fins et cette maladresse forme contraste avec l'habileté bien connue avec laquelle les oiseaux s'emparent des moindres graines tombées sur le sol. Une fois parvenus dans le bec, les grains sont déglutis avec la plus grande facilité. Il n'existe aucune dysphagie, non plus du reste qu'aucune salivation. Le hérissément des plumes, les secousses cloniques de la tête et du cou, le tremblement généralisé à tout le corps, l'opisthotonos ou un torticolis latéral, l'encolure étant fortement déviée à droite ou à gauche, sont des symptômes moins souvent notés. Avec les virus de rue renforcés, la mort peut survenir après trois ou quatre jours de maladie. Plus fréquemment, on observe une paralysie et une cachexie progressives qui aboutissent à la mort en huit ou dix jours. Plus souvent encore, la maladie tourne court. Peu à peu le pigeon arrive à se tenir debout et à conserver son équilibre; la démarche est moins hésitante et les faux pas se produisent uniquement si on force l'animal à accélérer son allure. Parfois, une rechute est susceptible de se déclarer qui ne comporte aucun pronostic grave et ne dure que quelques jours. L'affection poursuit ensuite, sans incident nouveau, sa marche vers la complète guérison. Dans 12 observations, la mort s'est produite 3 fois seulement, 3 cas de mort ayant, au surplus, été observés chez des animaux inoculés avec du virus de rue particulièrement actif (virus roumain). 6 pigeons ont guéri complètement. Un septième a été sacrifié intentionnellement, alors que, laissé à lui-même, il aurait vraisemblablement guéri. Chez le pigeon comme chez le coq, l'examen anatomo-pathologique du système nerveux peut déceler la présence de corps de Négri ainsi que les lésions carac-

téristiques de la rage des oiseaux, alors que les passages par le lapin effectués avec le bulbe donnent un résultat négatif. Dans ces cas, les réactions de défense semblent avoir, tout en stérilisant le névraxe, amené la mort par leur localisation et leur intensité (neuro-infection mortelle auto-stérilisable de M. Levaditi et de son école).

L'un de nous a noté à Constantinople (1) qu'un instinct très subtil portait les chiens de rue à fuir leur congénère enragé. Ils lui assignaient un gîte dans un coin du secteur, montaient à distance la garde autour de lui, aboyaient de façon menaçante dès qu'il paraissait vouloir quitter sa place et le contraignaient à regagner celle-ci au plus tôt. On observe assez souvent chez le pigeon rabique un phénomène de tous points analogue. Lorsqu'un pigeon vient à présenter les premiers symptômes de la maladie, ses camarades, qui depuis un temps parfois fort long occupent la même volière et entretiennent avec lui les rapports les plus amicaux, le fuient comme s'ils redoutaient son contact. Si néanmoins le malade cherche à se rapprocher d'eux, ils le frappent à coups de bec... et si grièvement parfois que la mort peut s'ensuivre.

La difficulté et souvent l'impossibilité de faire passer le virus rabique d'oiseau à oiseau est bien connue et nous n'avons pas essayé de répéter ces expériences sur le pigeon. Nous noterons simplement qu'un passage — unique il est vrai — par le cerveau de cet animal n'a jamais eu pour conséquence une diminution de la virulence de la souche employée pour le lapin ou pour le cobaye. Inoculés avec le bulbe du pigeon, les animaux prenaient la rage avec la même période d'incubation et succombaient après le même nombre d'heures que s'ils avaient reçu le même virus en provenance directe du lapin.

ANATOMIE PATHOLOGIQUE.

Examiné à l'œil nu, le névraxe du pigeon rabique ne diffère pas de celui d'un pigeon sacrifié en parfait état de santé. On ne distingue ni hémorragies, ni infiltrations, ni ramollissement.

(1) P. REMLINGER, La rage et le traitement antirabique à Constantinople. Ces *Annales*, 1909, p. 644-663.

Les lésions sont exclusivement microscopiques et très inégalement réparties. Le cervelet est, de beaucoup, le plus atteint. Le cerveau vient ensuite, puis la moelle épinière.

Les lésions du cervelet sont constantes. On les observe quelles qu'aient été la durée de l'incubation, la durée de la maladie déclarée, l'intensité des symptômes cliniques, etc. Les capillaires sont gorgés de sang jusque dans leurs ramifications les plus ténues. Celles-ci dessinent un riche réseau d'aspect cunéiforme dans la couche grise corticale et le centre blanc médullaire. Elles apparaissent immédiatement dans les coupes grâce aux volumineuses hématies nucléées qui les remplissent. Cet aspect forme contraste avec celui des coupes de cervelet sain où les ramifications des capillaires sont vides et peu visibles. Par endroits, l'endothélium vasculaire a entièrement disparu et les hématies se sont librement épanchées dans le parenchyme, en formant de véritables lacs sanguins sans limites bien définies. Ces foyers hémorragiques sont nombreux et leurs dimensions très variables. Les uns sont simplement formés de quelques hématies groupées. Les autres sont des épanchements importants, de topographie tourmentée et parfois ramifiée. Toutes les artérioles et les veinules sont entourées de manchons déterminés par des amas de leucocytes dans les gaines lymphatiques périvasculaires distendues. Enfin, la substance propre du cervelet est envahie par la diapédèse. Les leucocytes sont répartis dans tout l'organe, mais ils se rassemblent en foyers plus denses dans le sein des lames de substance grise. Ce sont les lymphocytes qui dominent, mais, surtout dans le voisinage des vaisseaux, on rencontre aussi quelques polynucléaires.

Les hémisphères cérébraux présentent les mêmes lésions que le cervelet mais à un degré beaucoup moins accusé. Loin d'être généralisés à la totalité du cerveau, c'est dans sa région postéro-inférieure qu'on les rencontre exclusivement. Le pôle frontal et les lobes olfactifs en sont régulièrement dépourvus. L'infiltration leucocytaire est discrète, sans foyers électifs bien nets. Les hémorragies sont plus rares et moins abondantes que dans le cervelet. Cependant, alors que les neurones du cervelet et les cellules de Purkinje ne montrent aucune altération, on rencontre de nombreuses cellules pyramidales cérébrales

qui renferment des corpuscules de Négri. Ces formations se présentent comme des inclusions protoplasmiques sphériques ou ovoïdes, de 5 à 10 μ de diamètre, très réfringentes et formées d'une substance éosinophile qui apparaît tantôt granuleuse et tantôt finement réticulée. Elles ne diffèrent pas des lésions similaires soit du coq, soit des mammifères rabiques.

Les lésions de la moelle épinière sont loin d'être constantes. Elles n'existent de plus que dans le tiers antérieur de l'organe, spécialement vers la base de la région cervicale. On note un état congestif qui se traduit par de la réplétion des capillaires et des lésions inflammatoires telles que des manchons périvasculaires et une infiltration leucocytaire discrète. Ces lésions n'ont été constatées que dans les cordons inférieurs et dans l'extrémité adjacente des cornes grises.

En résumé, la rage du pigeon est une encéphalo-myéélite qui se traduit par une inflammation interstitielle à prédominance périvasculaire. L'importance prépondérante des lésions du cervelet sur celles du cerveau et de la moelle épinière explique l'incoordination de l'équilibre et les troubles de l'automatisme locomoteur qui, dans cette espèce animale, dominent le tableau symptomatique de la maladie.

RÉSUMÉ ET CONCLUSIONS.

Même chez les pigeons inoculés dans le cerveau avec les virus de rue les plus agressifs, la rage expérimentale ne revêt jamais la forme furieuse. Elle se traduit exclusivement par des phénomènes paralytiques et par des troubles de l'équilibre qu'il est souvent assez difficile de distinguer les uns des autres. Les formes frustes où ces troubles de l'équilibre et ces manifestations paralytiques sont simplement ébauchés sont très fréquentes. Bien qu'avec des virus de rue renforcés la maladie puisse évoluer avec une grande rapidité, la rage du pigeon est certainement avec la rage du coq celle où la tendance à la chronicité et à la guérison est la plus marquée. Cette dernière survient dans plus de la moitié des cas.

Les jeunes pigeons sont certainement plus réceptifs que les adultes, mais la résistance de ceux-ci est loin d'être invincible.

Au microscope, on constate la présence de corps de Négri dans les cellules pyramidales de la région postéro-inférieure des hémisphères. Les lésions du cervelet caractérisées par une inflammation interstitielle à prédominance périvasculaire l'emportent toutefois de beaucoup sur celles du cerveau et de la moelle. Cette localisation explique les troubles de l'équilibre et de l'automatisme locomoteur qui dominent le tableau symptomatique de la maladie. A titre exceptionnel, le virus rabique peut être détruit dans le système nerveux central du pigeon, comme dans celui du coq, par les forces défensives de l'organisme, alors que par leur localisation et leur intensité les lésions entraînent néanmoins la mort de l'animal. C'est un nouvel exemple des neuro-infections mortelles auto-stérilisables de M. Levaditi et de son école.

*
* *

La rage du pigeon soulève, comme du reste celle du coq, une question fort intéressante. Nous avons montré que, si on inocule du virus rabique dans le cerveau d'un animal très réceptif tel que le lapin ou le chien, ce virus peut, au moyen de passages, être retrouvé au point d'inoculation pendant vingt-quatre heures; il disparaît ensuite pour ne réapparaître que quelques jours avant l'éclosion de la maladie chez les témoins. C'est l'*éclipse* du virus rabique. Chez les animaux complètement réfractaires, la tortue en particulier, on observe un phénomène tout différent. Nous avons pu chez elle déceler dans le cerveau la présence du virus rabique cent dix jours après l'inoculation et, faute de tortues, nous n'avons certainement pas atteint la limite supérieure de cette *permanence*. MM. Kraus et Clairmont ont signalé autrefois chez le coq et chez le pigeon des faits du même ordre. Chez ces oiseaux, et bien que le phénomène ne soit pas constant, ces auteurs ont pu retrouver dans le bulbe et jusque dans la moelle le virus injecté, après neuf, treize, vingt-quatre jours (coq); après douze, treize, vingt-six jours (pigeon). Il semble que de cette curieuse dualité de comportement du virus rabique chez les animaux réceptifs et réfractaires il soit possible de tirer argument en faveur de la nature microsporidienne du parasite de la rage. La permanence — sinon

la propagation — du virus chez des animaux ni très réceptifs, ni complètement réfractaires mais moyennement sensibles, tels que le coq et le pigeon, peut contribuer à la solution de plusieurs questions intéressantes. Elles sont en cours d'étude à notre Institut et feront l'objet d'un mémoire ultérieur.

RECHERCHES

SUR L'IMMUNISATION CONTRE LA PESTE PORCINE

RÉSULTATS OBTENUS

par A. DONATIEN et F. LESTOQUARD.

I. — Préambule.

A la fin de l'année 1925, à la suite des ravages causés par la peste porcine dans les élevages algériens, des recherches ont été entreprises à l'Institut Pasteur d'Algérie sur les moyens de combattre cette maladie. En raison du peu d'efficacité des mesures sanitaires, les efforts ont porté uniquement sur des essais d'immunisation des animaux sensibles. Ces recherches, poursuivies pendant trois ans, sont rapportées dans le présent mémoire.

La peste du porc sévit un peu comme la fièvre aphteuse, par vagues épizootiques séparées par des périodes d'accalmie. La vague de 1912 qui permit de l'identifier à l'Institut Pasteur d'Algérie, celles de 1916 et de 1921 et surtout celle de 1925-1926 ont causé de véritables désastres. A la faveur de cette dernière invasion, la maladie paraît s'être implantée dans le pays, si bien que de nombreux colons, découragés par des pertes sans cesse renouvelées, ont renoncé à l'élevage du porc.

C'est bien la peste porcine et non la pneumonie contagieuse ou l'entérite infectieuse qui sévit en Algérie. Le diagnostic est confirmé tout d'abord par l'épidémiologie; dans un effectif contaminé, la contagion procède toujours avec une allure extrêmement rapide : tous les sujets sensibles sont atteints dans un délai très court. Il s'agit bien ici d'une maladie épizootique qui frappe sans distinction les sujets de tout âge.

D'ailleurs, l'étude expérimentale faite à partir des prélèvements recueillis dans de nombreux foyers de maladie le démontre suffisamment.

Bien souvent, en effet, nous avons isolé, par la culture de la

moelle osseuse, des bactéries telles que des salmonella, des colibacilles, des pasteurella, des streptocoques, le bacille pyogène de Grips, le bacille pyocyanique et d'autres encore. Ces microbes sont très peu pathogènes ou même inoffensifs pour le porc. Mais, toutes les fois que, en plus de la culture, nous avons procédé à l'inoculation de porcelets neufs, nous avons mis en évidence le virus filtrant, cause nécessaire et suffisante de la peste vraie. Il ne s'agit donc ni de salmonellose, ni de pasteurellose, ni de pyobacillose, mais de peste porcine compliquée de ces diverses infections; souvent, enfin, l'ensemencement de la moelle est resté sans résultat.

Depuis le début de 1925, nous avons ensemencé la moelle osseuse d'os longs de 171 animaux morts de la peste porcine. Le diagnostic était porté tantôt d'après l'épidémiologie, tantôt d'après les signes cliniques ou anatomiques observés, tantôt enfin expérimentalement. 47 fois il ne s'est produit aucune culture, 55 fois on a récolté une salmonella, 27 fois du colibacille, 18 fois du staphylocoque, 5 fois du streptocoque, 3 fois une pasteurella, 3 fois un bacille ressemblant à la bactérie charbonneuse par ses caractères morphologiques et culturaux mais mobile et non pathogène, 1 fois le pyobacille de Grips, 1 fois le bacille pyocyanique, 11 fois enfin des germes indéterminés.

C'est donc la salmonella qui domine. Nous avons éprouvé plusieurs fois sa virulence pour le porc et, chaque fois, l'inoculation n'a donné lieu qu'à une poussée thermique fugace. En Algérie tout au moins, ce germe doit être considéré comme un hôte normal de l'intestin du porc qui franchit la barrière intestinale à la faveur de la dépression causée par le virus filtrant.

Le colibacille comme le staphylocoque ou le bacille pyocyanique envahissent le torrent circulatoire à l'agonie ou *post mortem* et peuvent atteindre la moelle osseuse et s'y développer. On les rencontre surtout quand le prélèvement a été fait assez longtemps après la mort.

Pour le streptocoque et la pasteurella, on dit habituellement qu'ils sont les agents des complications pulmonaires. Nous n'avons pu le vérifier pour le streptocoque, n'ayant eu pour les foyers dans lesquels ce germe était trouvé que des renseignements épidémiologiques. Quant à la pasteurella, nous l'avons

isolée nous-mêmes 2 fois sur les 3 qui figurent dans notre statistique. Dans un cas, le cadavre présentait effectivement une pleuro-pneumonie suppurée; dans l'autre cas, il s'agissait d'un porcelet qui portait des lésions de septicémie qui se rapportaient au virus filtrant.

Il convient ici d'ouvrir une parenthèse sur les pasteurella des animaux domestiques de l'Algérie. Tandis qu'au Maroc nos confrères les ont trouvées souvent sur la poule, le porc, le bœuf, elles ont été au contraire très rarement identifiées dans notre colonie : 1 fois dans une enzootie bovine aux environs de Guelma, 3 fois sur le porc (2 fois à Rouïba près d'Alger, 1 fois à Arzew, port de la province d'Oran), 4 fois enfin chez des oiseaux domestiques (1 fois sur une oie d'Ain Témouchent dans le département d'Oran, et 3 fois sur des Gallinacés à Sétif dans le département de Constantine). Cela suffit pour indiquer le rôle effacé que jouent à l'heure actuelle les germes de ce groupe en Algérie.

Enfin, le pyobacille de Grips a été si peu fréquent jusqu'ici qu'on peut considérer son action comme pratiquement nulle.

II. — Essai de vaccinations antibactériennes.

Nous ne connaissions pas, en 1925, tous ces résultats bactériologiques. C'est depuis cette époque seulement que nous les avons obtenus. C'est pourquoi, en raison des données purement théoriques que nous possédions alors sur les pneumo-entérites, nous avons pensé que l'immunisation préalable des porcs contre la pasteurella et la salmonella aurait été de nature à diminuer les pertes dues à la peste. De cette façon, les animaux n'auraient eu à se défendre que contre le virus filtrant.

En conséquence, nous avons préparé des vaccins contre la salmonella et contre la pasteurella. Le premier de ces deux vaccins était constitué par des cultures tuées de plusieurs souches de *B. suispestifer* isolées dans divers foyers de peste porcine. Le vaccin était inoculé sous la peau à la dose de 1 cent. cube. Cette inoculation était suivie de la formation d'un petit nodule qui disparaissait après une dizaine de jours. Pour le second, étant donné la faible importance de la pasteurellose

porcine, nous nous étions contentés d'une pasteurella très virulente du lapin. Nous inoculions sous la peau du porc une culture fraîche en bouillon à la dose de 0 c. c. 5. Cette inoculation provoquait une réaction locale légère sans gravité.

Dans le courant de l'année 1926, 16.468 doses de vaccin antipasteurella et 17.663 doses de vaccin antisalmonella furent distribuées gratuitement aux vétérinaires algériens qui nous en faisaient la demande. Les résultats obtenus furent des plus variables. Ces vaccins paraissaient efficaces là où la vraie peste s'était naturellement atténuée et, mieux encore, là où elle n'existait pas. Par contre, dans les régions où régnait l'épizootie, les pertes étaient aussi graves dans les troupeaux vaccinés et dans les troupeaux non vaccinés. Bien mieux, chez des animaux vaccinés contre le *B. suispestifer* et qui avaient succombé à la peste, l'ensemencement de la moelle osseuse donnait parfois une culture de salmonella. Ces résultats ne répondaient donc pas à notre attente. Les vaccinations antimicrobiennes furent abandonnées, et notre activité fut dirigée uniquement vers la lutte contre le virus filtrant.

III. — Essais d'immunisation active par le virus formolé.

Nous inspirant des résultats obtenus dans l'immunisation contre la fièvre aphteuse, la peste bovine, la peste aviaire, la rage et la clavelée par les virus formolés, nous avons essayé d'appliquer cette méthode à la peste porcine. Dans les maladies dont l'agent causal doit être obtenu par des cultures *in vivo*, les vaccins tués ont des avantages incontestables. En tuant le virus filtrant, on se débarrasse, du même coup, d'autres germes visibles ou invisibles qui peuvent se trouver sur l'animal producteur de virus. En outre, on ne s'expose pas, par la vaccination, à créer de nouveaux foyers d'infection.

PREMIÈRE EXPÉRIENCE (3 mai 1926). — Un porcelet en pleine réaction de peste expérimentale est saigné à blanc. On prélève la rate, le foie et un rein. Ces organes sont broyés au Latapie; la pulpe obtenue est additionnée de trois fois son poids d'eau physiologique. On filtre sur tarlatane. La dilution obtenue est formolée à 5 p. 1.000 et placée dans une chambre obscure à la température constante de 18°.

Cette dilution formolée est inoculée à partir du 7 mai à 7 porcelets provenant d'un élevage indemne de peste. Certains reçoivent une seule inoculation; d'autres, deux; les autres, enfin, trois, à deux ou trois jours d'intervalle. Deux porcelets provenant du même élevage sont conservés comme témoins.

Comme épreuve, les 9 porcelets reçoivent 1 cent. cube de sang virulent vingt-deux jours après la troisième inoculation. Toute l'expérience, résultats compris, est figurée dans le tableau ci-après :

DÉSIGNATION des porcelets	PREMIÈRE inoculation dilution formolée (7 mai 1926)	DEUXIÈME inoculation dilution formolée (10 mai 1926)	TROISIÈME inoculation dilution formolée (12 mai 1926)	ÉPREUVE sang virulent (3 juin 1926)	RÉSULTATS
	cent. cubes	cent. cubes	cent. cubes	cent. cubes	
B. 39	0	0	0	1	+ le 13 juin.
B. 40	0	0	0	1	+ le 10 juin.
B. 29	5	0	0	1	+ le 23 juin.
B. 30	20	0	0	1	+ le 18 juin.
B. 31	40	0	0	1	A survécu.
B. 32	10	8	0	1	+ le 25 juin.
B. 33	10	10	10	1	A survécu.
B. 34	40	32	0	1	A survécu.
B. 35	40	40	40	1	A survécu.

Il est utile de noter que tous les animaux éprouvés, y compris ceux qui ont survécu, ont fait, après l'inoculation d'épreuve, des réactions thermiques importantes et bien caractéristiques de la peste expérimentale. Néanmoins, les résultats de cet essai paraissant favorables, d'autres expériences furent mises en train.

DEUXIÈME EXPÉRIENCE. — On essaye cette fois d'immuniser par une seule inoculation de virus formolé à 2 p. 1.000; mais, pour diminuer le volume du liquide à inoculer, on centrifuge la dilution et le culot est repris dans deux parties d'eau physiologique.

Le 30 juin 1926, 4 porcelets du même lot reçoivent sous la peau :

B 71 et B 72 : 15 cent. cubes de dilution en un point du corps.

B 73 et B 74 : 30 cent. cubes de dilution en deux points séparés.

Le 15 juillet suivant, ces 4 porcelets et un sujet neuf sont inoculés avec 0 c. c. 25 de sang virulent.

B 72 et B 73 et le porcelet témoin font une réaction thermique et clinique caractéristique. Les deux premiers animaux sont sacrifiés *in extremis* le 23 juillet; le porcelet témoin subit le même sort le lendemain. On voit de très belles lésions de colite hémorragique sur B 73 et sur le porcelet témoin.

B 71 et B 74 font, à la suite de l'épreuve, une réaction thermique fugace et ne présentent, à aucun moment, de signes cliniques. Ces deux animaux, soumis ultérieurement à une épreuve de contamination naturelle, ont parfaitement résisté.

TROISIÈME EXPÉRIENCE. — Dans cette troisième expérience, on essaye le pouvoir immunisant de la dilution de muscles comparativement à celui de la dilution d'organes. On procède à deux inoculations séparées par un intervalle de quatorze jours.

Un porcelet en pleine réaction de peste expérimentale est sacrifié par saignée incomplète à la carotide. Il est achevé par section du bulbe.

On prélève d'une part le foie, la rate et les reins et, d'autre part, les muscles cruraux. On broie séparément les organes et les muscles. On prépare des dilutions au 1/4 avec les deux sortes de prélèvements. Ces dilutions sont formolées à 2 p. 1.000 et laissées en contact six jours à 23°.

5 juillet 1926 : Le porcelet S 82 reçoit S. C. 10 cent. cubes dilution muscles.

Le porcelet S 86 reçoit S. C. 20 cent. cubes dilution muscles.

Le porcelet S 85 reçoit S. C. 10 cent. cubes dilution organes.

Les 3 porcelets S 88, S 89 et S 90 reçoivent 20 cent. cubes dilution organes.

19 juillet 1926 : Les inoculations ci-dessus sont renouvelées.

5 août 1926 : Les porcelets S 82, S 86, S 85, S 90 et, en outre, un porcelet témoin sont inoculés sous la peau avec 0 c. c. 4 de sang virulent.

Ces 5 porcelets commencent à réagir deux jours après l'inoculation. Ils font une peste expérimentale classique et succombent entre le 12 et le 25 août.

10 août 1926 : Les porcelets S 88 et S 89 sont soumis avec un porcelet témoin à une épreuve de contamination naturelle.

Les 3 animaux commencent à présenter de l'hyperthermie à partir du 15 août et succombent entre le 21 et le 24 août.

Donc 2 inoculations à quinze jours d'intervalle de dilutions de muscles ou d'organes formolés n'ont protégé à aucun degré les animaux qui les avaient reçues.

A partir de cette époque, nous avons adopté une nouvelle technique pour la préparation du virus formolé.

Les animaux producteurs de virus sont saignés en pleine réaction thermique de peste. Le sang recueilli est défibriné. On prélève ensuite le foie, la rate, les reins, le cœur, le cerveau et tous les ganglions accessibles. Ces organes sont broyés au Latapie et ensuite lixiviés sur un filtre de tarlatane de façon à en extraire tout le suc virulent. On ajoute le sang défibriné. Le poids total du suc d'organes et du sang défibriné est dilué au 1/8 dans l'eau physiologique. On formole à 5 p. 1.000 et on laisse en contact de cinq à sept jours à une température comprise entre 20 et 25°. La dilution est employée, tantôt telle qu'elle a été obtenue, tantôt après centrifugation. Le culot est alors dilué de telle sorte que l'on obtienne un volume 3 fois inférieur à celui de la dilution primitive.

Ce virus formolé ne s'est guère montré plus actif que le précédent. Dans une expérience, 4 porcelets qui avaient reçu respectivement 40 et 80 cent. cubes de dilution non centrifugée et 40 et 80 cent. cubes de dilution centrifugée ne se sont pas mieux comportés que les témoins à l'épreuve de la contamination naturelle ou de l'inoculation expérimentale. Trois en effet ont succombé. Seul a résisté, après avoir fait une longue réaction thermique, le porcelet qui avait reçu 40 centicubes de dilution non centrifugée.

Entre autres exemples, nous pouvons citer également un porcelet qui avait reçu 100 centicubes de dilution non centrifugée et qui, éprouvé trente-deux jours après, meurt de peste porcine en une semaine.

Le seul résultat pleinement favorable que nous avons obtenu par l'inoculation de virus formolé est relaté dans l'expérience suivante :

4 porcelets S 81, S 83, S 84 et S 87 reçoivent, le 5 juillet 1926 et le 19 juillet 1926, 20 centicubes de virus formolé préparé comme il est dit dans la troisième expérience.

Ces 4 porcelets reçoivent le 18 août une troisième inoculation de virus formolé préparé selon notre deuxième formule.

S 81 : 80 centicubes de dilution non centrifugée.

S 83 : 40 centicubes de dilution non centrifugée.

S 84 : 40 centicubes de dilution centrifugée.

S 87 : 20 centicubes de dilution centrifugée.

Ces animaux sont éprouvés trois semaines après en même temps que 3 animaux témoins : S 81, S 83 et S 84 et 2 animaux témoins par inoculation de 0 c. c. 2 de sang virulent, S 87 et le troisième animal témoin par contamination naturelle. Or, les 3 témoins sont morts de peste tandis que les 4 animaux traités ont survécu : S 84 et S 87 en faisant une légère réaction thermique et S 81 en faisant une réaction thermique un peu longue.

Cette dernière expérience prouve donc que l'on peut arriver à immuniser des porcs contre la peste par inoculation de virus formolé. Il est incontestable que les sujets S 81, S 83, S 84 et S 87 étaient, avant d'avoir reçu leurs trois inoculation de virus formolé, réceptifs à la peste puisqu'ils appartenaient au même lot que les animaux de la troisième expérience qui, eux, ont tous succombé à l'épreuve. Mais il n'a pas fallu moins d'un mois et demi pour qu'une immunité relativement solide fût acquise. D'autre part, des doses de virus assez considérables ont été nécessaires pour obtenir ce résultat. Il faut un trop long délai et une trop grande quantité de virus pour que cette méthode d'immunisation puisse entrer dans la pratique. Il ne faut pas oublier, en effet, l'extrême rapidité de diffusion de la peste porcine. A cause de la lenteur de l'établissement de l'immunité, le virus formolé ne peut pas être employé dans un milieu contaminé. Or, c'est dans de tels milieux qu'il faudra le plus souvent intervenir tant que les éleveurs de porcs n'auront pas une notion bien nette de la lutte contre la peste. Cette méthode ne pourrait être appliquée que dans certains cas bien particuliers. Des reproducteurs de valeur destinés à des pays où sévit la maladie pourraient avant leur départ être immunisés par des chargements répétés de virus formolé. Mais, en Algérie, il nous faut une méthode plus pratique. C'est pourquoi nous avons renoncé à poursuivre ces essais. Nous nous sommes donc adressés à la méthode qui avait déjà donné des résultats pratiques aux États-Unis, en Hongrie et en Allemagne, c'est-à-dire à une méthode basée sur l'emploi d'un sérum provenant de porcs hyperimmunisés.

IV. — Le sérum contre la peste porcine.

A. — TECHNIQUE DE PRÉPARATION DU SÉRUM.

La préparation du sérum contre la peste porcine comporte trois opérations essentielles : la production du virus, les chargements des animaux producteurs de sérum, les saignées de ces animaux.

a) *Production du virus.*

Le virus pestique, incultivable *in vitro* et strictement spécifique pour l'espèce porcine, ne peut être obtenu que de porcs



FIG. 1. — Porcelet porte-virus au début de sa réaction thermique.

infectés. La première des conditions est donc d'avoir à sa disposition des porcs « neufs », c'est-à-dire réceptifs à la peste et en quantité suffisante pour qu'ils puissent donner le sang nécessaire à l'hyperimmunisation des animaux producteurs de sérum. C'est en effet le sang, aussi riche que possible en virus, que nous avons employé comme matériel de chargement.

Nous utilisons, comme animaux donneurs de virus, des porcs pesant de 20 à 30 kilogrammes et susceptibles de donner par saignée à blanc environ 1.500 cent. cubes de sang (fig. 1).

Ces animaux sont inoculés sous la peau avec 1 cent. cube de sang virulent. La prise quotidienne de température indique que la maladie commence à se développer vers le quatrième ou cinquième jour en moyenne ; on note à ce moment au moins 40°, et les jours suivants la température oscille autour de 41°, atteignant

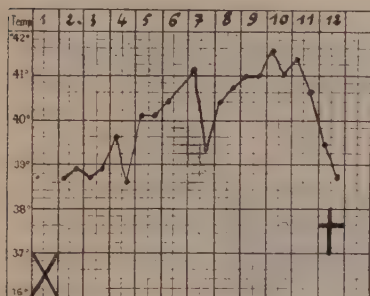


FIG. 2.

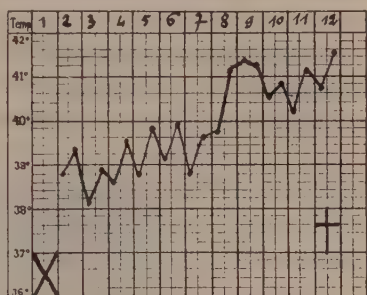


FIG. 3.

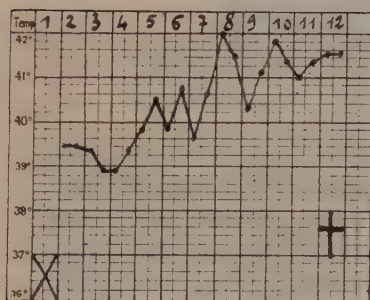


FIG. 4.

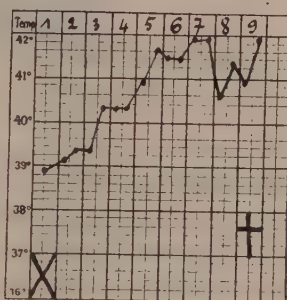


FIG. 5.

FIG. 2. — Réaction thermique d'un porcelet inoculé avec le virus algérien « A. P. A. ».

FIG. 3. — Réaction thermique d'un porcelet inoculé avec le virus algérien « Guyotville ».

FIG. 4. — Réaction thermique d'un porcelet inoculé avec le virus algérien « Attard ».

FIG. 5. — Réaction thermique d'un porcelet inoculé avec le virus français « Rossi ».

même souvent 42°. On laisse évoluer la maladie pendant cinq jours en moyenne, et, lorsque l'état clinique ou une chute rapide de la température indiquent une fin prochaine, l'animal est sacrifié par saignée à blanc au niveau de la carotide (fig. 2, 3, 4 et 5).

Cette saignée ne comporte pas de manuel opératoire particulier, elle est identique à celle pratiquée dans toutes les espèces. Nous indiquerons seulement qu'il est préférable de l'effectuer du côté droit, pour éviter d'être gêné par l'œsophage.

Le sang est recueilli aseptiquement dans des bouteilles contenant une solution stérilisée de citrate de soude, de manière que le sang contienne 1 p. 100 de ce sel.

Lorsque le sang ainsi récolté ne doit pas être employé immédiatement, on le conserve à la glacière à 0° où la virulence se maintient constante pendant plusieurs mois.

Les diverses souches de virus pestique que nous avons utilisées à l'Institut Pasteur d'Algérie se sont montrées identiques entre elles. Il est cependant indiqué de se servir pour la production du virus du plus grand nombre de souches possible et de faire régulièrement avec chacune d'elles des passages sur des animaux sensibles. Nous avons ainsi utilisé du virus de 12 souches différentes.

*b) Immunisation et hyperimmunisation
des animaux producteurs de sérum.*

Pour les porcs producteurs de sérum, notre choix s'est porté sur des animaux d'assez grande taille, de 70 kilogrammes et au-dessus. Nous donnons la préférence aux truies, surtout quand elles ont déjà eu une ou plusieurs portées (veines mammaires très développées); on en verra plus loin l'importance (fig. 6).

Au préalable, ces animaux sont immunisés par séro-inoculation (voir plus loin la technique) et, environ trois semaines après, sont éprouvés avec une forte dose de virus (5 à 10 cent. cubes sous la peau). Ce n'est que trois mois après la séro-inoculation que les futurs producteurs de sérum sont à la période la plus favorable pour qu'on entreprenne l'hyperimmunisation. Pendant cette période et aussi pendant qu'ils produisent du sérum, ces animaux reçoivent une bonne alimentation, mais calculée de telle manière qu'ils n'engraissent pas trop.

Les inoculations de virus sont pratiquées dans le péritoine qui est certainement la voie la plus commode, puisque l'on peut ainsi injecter de grosses quantités de sang sans risque d'infec-

tion. Nous avons rejeté la voie sous-cutanée parce que trop souvent il se produit des abcès au point d'inoculation. La voie veineuse est praticable, tout au moins sur les animaux ayant de belles veines mammaires, mais les injections doivent être effectuées très lentement pour éviter les accidents de choc assez fréquents et toujours graves.

Les porcs prêts à subir l'hyperimmunisation reçoivent dans le péritoine un premier « chargement » de 400 cent. cubes de virus pestique, et quatorze jours après un deuxième « chargement » de 600 cent. cubes. Quatorze jours après cette deuxième inoculation, les animaux subissent une première saignée et



FIG. 6. — Groupe de trois truies à sérum. Hauteur de la murette : 0 m. 80.

quatre jours après une deuxième. Quarante-huit heures après cette deuxième saignée, ils reçoivent un nouveau « chargement » de sang virulent dans le péritoine, au moins égal au deuxième, soit 600 cent. cubes. Quatorze jours après, les animaux sont saignés deux fois à quatre jours d'intervalle, puis rechargés, et on continue ainsi ce rythme de chargements et de saignées jusqu'à ce que les saignées partielles soient devenues impossibles par « usure » des veines accessibles. A ce moment, quatre jours après les deux dernières saignées partielles, on termine la carrière de l'animal par une saignée totale au niveau de la carotide.

Dans de rares cas, au cours de l'hyperimmunisation des producteurs de sérum, nous avons noté des accidents mortels. A l'autopsie nous avons relevé les signes d'une septicémie hémorragique au niveau de tous les organes. Tous les ensemençements pratiqués sont demeurés stériles, les examens ont

été négatifs et les inoculations ont donné une réponse négative.

Au moment de la saignée, le sang est défibriné et centrifugé



FIG. 7. — Centrifugeuse Jouan de 5 litres.

ensuite, à grande vitesse pendant une heure, pour recueillir le sérum. Nous préférons ce procédé à celui de la coagulation,



FIG. 8. — Décantation du sérum antipestique.

car le rendement en sérum est supérieur (53 à 65 p. 100). Le sérum est ensuite phéniqué (5 p. 1.000) et sunoxolé (1 p. 9.000) (fig. 7 et 8).

c) *Technique des saignées partielles.*

Nous effectuons les saignées partielles au niveau des veines mammaires et des veines jugulaires superficielles; nous indiquons, pour chaque cas, notre manuel opératoire.

CONTENTION. — L'animal est placé sur une table en décubitus dorsal, de telle manière que la tête ne repose pas sur la table :



FIG. 9. — Contention d'une truie à sérum.

la tête fixée au moyen de cordes à chacun des montants de la table, et les membres postérieurs à deux anneaux fixés sur la table. En outre, l'animal est sanglé au niveau de la poitrine, en arrière des membres antérieurs, par une forte courroie de cuir. Une deuxième courroie peut être placée au niveau de l'abdomen quand il s'agit d'animaux particulièrement vigoureux. Les membres antérieurs sont maintenus en position convenable par deux aides. La contention est la même pour toutes les saignées (veines mammaires, jugulaire, ou carotide) (fig. 9).

1° *Veines mammaires.* — La pratique de la saignée aux veines mammaires a, au point de vue de la production du sérum, une importance capitale, car elle permet d'augmenter quelquefois dans des proportions énormes le rendement des pores producteurs de sérum. C'est la raison pour laquelle nous utilisons surtout des truies ayant eu une ou plusieurs portées,

car elles ont ainsi des veines mammaires très développées et facilement accessibles.

Assez souvent ces veines mammaires sont assez grosses et saillantes pour que l'on puisse exécuter une saignée au trocart par le procédé sous-cutané, exactement comme cela se pratique chez le cheval ou chez le bœuf au niveau de la jugulaire. Dans



Fig. 10. — Trajet des veines mammaires.

ce cas, la technique est simple et n'a pas besoin d'être plus explicitement exposée.

Mais lorsque la veine mammaire est insuffisamment perceptible de l'extérieur, on est obligé de la découvrir pour procéder à la saignée. Le lieu d'élection est situé à environ $1/2$ ou 1 centimètre en dehors du trayon le plus antérieur (fig. 10).

On opère sous anesthésie locale à la cocaïne; on incise d'abord la peau et, par dédolement du tissu conjonctif grasseux sous-cutané, on dégage la veine sur une longueur de 2 à 3 centimètres. On place une pince sur le bout central pour faire gonfler le vaisseau, et on enfonce un trocart. On obtient ainsi un débit considérable qui permet de recueillir 1.000 cent. cubes de sang en une dizaine de minutes et avec toutes les précau-

tions d'asepsie désirables. Après la saignée on suture la paroi de la veine au catgut, puis la peau. Pour suturer la paroi veineuse, on saisit avec une pince hémostatique les lèvres de la plaie, et le moignon ainsi formé est ligaturé au catgut. La plaie opératoire est traitée par l'eau oxygénée et la teinture d'iode. L'éther est contre-indiqué chez les porcs qui y sont très sensibles. La cicatrisation est toujours rapide, et quand on sait éviter les accidents septiques on peut pratiquer de cette façon de nombreuses saignées sur la même veine (fig. 11).

2° *Veines jugulaires superficielles.* — Chez le porc, la jugu-



Fig. 11. — Saignée à la veine mammaire.

laire superficielle ne l'est que de nom, car chez des animaux de grande taille elle est située à plusieurs centimètres de profondeur et la saignée devient, dans ces conditions, une véritable opération chirurgicale. Le lieu d'élection est situé tout le long de la gouttière jugulaire sur une ligne parallèle à l'axe longitudinal de l'encolure et tracée à 1-2 centimètres en dehors de la partie la plus déprimée (fig. 12).

On pratique l'anesthésie locale à la cocaïne après avoir rasé et désinfecté à la teinture d'iode le champ opératoire.

On incise la peau sur une longueur d'environ 5 à 6 centimètres. A ce moment on place « un champ » stérilisé (fig. 13). Puis au moyen d'une sonde plate on débride tous les tissus musculaires et conjonctifs qui constituent le plan superficiel;

dans certains cas il faut même procéder à l'ablation d'un ganglion cervical. Au fur et à mesure du débridement, un aide écarte les lèvres de la plaie opératoire; à une profondeur variable suivant les animaux on découvre la veine jugulaire superficielle toujours de gros calibre. On la libère de ses adhérences conjonctives sur la plus grande longueur possible de manière à pouvoir l'attirer aisément vers l'extérieur. Une pince



FIG. 42. — Lieu d'élection de la saignée à la veine jugulaire.

est placée sur le bout central, puis on introduit un trocart en direction périphérique. Le débit sanguin est très considérable et en quelques minutes on recueille 1.000 à 1.500 cent. cubes de sang. On retire le trocart tout en pinçant le bout périphérique, on suture au catgut l'ouverture de la veine, et après un minimum de précautions antiseptiques on suture la plaie cutanée. La cicatrisation est rapide et les accidents septiques assez rares. Par ce procédé, on peut effectuer 3 saignées sur la même veine.

Ainsi, grâce à ces diverses techniques que nous avons imaginées en partie, le nombre de saignées partielles sur un porc peut être considérable, ce qui offre beaucoup d'avantages :

rendement plus grand, amélioration de la qualité du sérum. Mais surtout le principal avantage est d'opérer proprement et de pouvoir recueillir le sang et le sérum aseptiquement, ce qui est impossible avec la vieille technique de saignée du porc par section de la queue. En Algérie, les pores sont relativement petits, et la saignée à l'artère coccygienne n'est pas du tout



FIG. 13. — Premier temps de la saignée.
La peau a été incisée, le champ placé. Les lèvres de la plaie sont écartées.

pratique. En effet, pour toutes les saignées, on opère avec du matériel stérile : trocart muni d'une tubulure en caoutchouc amenant le sang dans un flacon. La centrifugation s'effectue aussi avec un matériel stérilisé.

Pour préparer du sérum en grande quantité, il faut traiter les producteurs de sérum en série, et non par unités. Nos séries sont constituées par trois animaux, et nous réunissons trois séries sous le même numéro de sérum. La totalité du sérum recueilli au cours de la production des 9 animaux est mélangée, et pour l'usage dans la pratique nous mélangeons encore plusieurs numéros de sérum de manière à avoir un

sérum d'activité déterminée, pratiquement toujours la même.

Afin de conserver les producteurs de sérum le plus longtemps possible, nous observons pour les saignées partielles le rythme suivant : saignée à une veine mammaire, quatre jours après saignée à une veine jugulaire. Lors des saignées suivantes, on saigne aux veines mammaire et jugulaire du côté opposé. De cette façon, l'intervalle de temps qui sépare deux saignées à la même veine est de quarante jours, ce qui est largement suffisant pour que le vaisseau retrouve son intégrité.

Grâce à ces techniques nous avons pu obtenir des quantités de sérum considérables pour chaque animal. Au début, en ne pratiquant qu'une seule saignée à chaque veine, le rendement était de 4 à 5 litres par animal. Mais la suture des parois veineuses et la technique des chargements répétés nous a permis de dépasser largement ces chiffres et d'atteindre 9 à 10 litres par animal. Enfin, certaines truies, possédant de grosses veines mammaires et saignées directement au trocart sans incision préalable de la peau, produisent du sérum pendant plusieurs mois. L'une d'elles, encore en service, nous a déjà donné 30 litres de sérum.

Toutes ces techniques étaient au point et pratiquées depuis de longs mois lorsque Blaizot a fait connaître sa technique particulière dont l'originalité consiste à faire des chargements au moyen d'organes glycerinés. Nous l'avons expérimentée et nous avons pu juger que le sérum ainsi produit est bon. Cependant, nous nous sommes aperçus de la nécessité de faire subir un double broyage par les broyeurs Latapie d'abord et Chalybäus ensuite, pour rendre possible l'injection de l'émulsion au moyen d'une seringue.

De plus, nous avons noté que ces injections sont suivies, dans presque tous les cas, de la formation de gros nodules qui ne se résorbent pas ou qui s'abcèdent. Ce sont là les inconvénients de la méthode, qui offre par ailleurs l'avantage d'être rapide et économique.

B. — EMPLOI DU SÉRUM CONTRE LA PESTE DU PORC. SÉRO-CONTAMINATION.

Dès que nous avons possédé une certaine quantité de sérum antipestique, nous avons essayé son pouvoir en l'injectant à des sujets faisant partie d'un effectif contaminé, c'est-à-dire dans

des porcheries où on avait observé tout récemment des cas de peste porcine. La plupart du temps, le sérum était injecté à tous les animaux de la porcherie, aussi bien à ceux qui présentaient des signes même graves de peste qu'à ceux qui étaient cliniquement sains. Parmi ces derniers, certains étaient en hyperthermie. Les résultats obtenus étaient satisfaisants ainsi que le démontrent les observations suivantes :

1° *Biskra. Exploitation S...*; juin 1927 : Sur un troupeau de 110 porcs, 11 porcs meurent en quatre jours de peste porcine (diagnostic clinique et nécropsique). On sérumise alors tous les survivants, parmi lesquels se trouvent quelques malades. La mortalité s'arrête aussitôt.

2° *Guotville. Exploitation P...*; février 1928 : L'effectif est composé de 5 gros animaux tous très malades et de 26 petits. M. P... a observé les premiers signes de la maladie cinq jours auparavant; 2 des gros animaux et 5 petits sont trop atteints pour être traités utilement. Tous les autres sont malades, car le thermomètre révèle chez tous de l'hyperthermie. On sérumise néanmoins 3 gros animaux et 21 petits. Trois semaines après on nous annonce que 1 gros animal et 18 petits ont survécu. Tous les animaux non sérumisés ont succombé.

3° *Blida. Exploitation V...*; mars 1928 : L'exploitation comprend 95 animaux. La maladie dure depuis une semaine. De nombreux animaux présentent des signes de la maladie et plus de la moitié ont de l'hyperthermie. On ne traite pas 7 animaux trop malades. Les 88 autres sont sérumisés. Trois semaines après les 7 animaux non traités ont succombé et 84 sur les 88 traités sont vivants et en bonne santé.

4° *Bougie. Exploitation L...*; février et mars 1926 : Le troupeau comprend 115 porcs : 70 anciens et 45 nouveaux. La maladie a été introduite par ces derniers et a éclaté depuis sept jours. On compte déjà 16 morts : 15 parmi les nouveaux et 1 parmi les anciens. On sérumise les 99 animaux restants parmi lesquels un est très malade. Trois semaines après, 4 animaux seulement ont succombé. Il en reste donc 95.

Depuis cette époque, le sérum a été essayé, dans les mêmes conditions, non seulement par nous-mêmes, mais encore par plusieurs confrères. Certains ont obtenu des succès analogues à celui de l'observation I : la mortalité s'arrêtait immédiatement après la sérumisation. D'autres résultats ont été moins favorables. Il est vrai que l'injection de sérum avait été faite longtemps après l'apparition de la maladie et le sérum était injecté à des animaux atteints gravement et depuis déjà longtemps. Au point de vue curatif, le sérum n'a d'efficacité que dans les premiers jours de l'hyperthermie alors que l'on n'observe encore aucun signe clinique. Mais dès que l'animal présente des symptômes de peste tels que de la diarrhée, des

signes respiratoires, de la parésie, de l'amaigrissement, le sérum prolonge seulement la durée de la vie de l'animal, mais ne le préserve généralement pas d'une issue fatale. Au point de vue préventif, le sérum soustrait les animaux à une infection légère pendant une durée d'environ trois semaines. Si la contamination est plus intense et surtout si elle est répétée, l'animal s'infecte tout de même, mais grâce à la présence du sérum dans son organisme la maladie évolue sous une forme atténuée qui se termine le plus souvent par la guérison. Au lieu de l'immunité passive conférée généralement par la sérumisation, c'est une immunité active de longue durée qui aura, cette fois, été acquise. C'est d'ailleurs ce que l'on cherche à obtenir par la sérumisation des animaux contaminés. Mais cette opération est délicate, elle demande à être effectuée avec beaucoup de soins. C'est pourquoi, après de nombreux tâtonnements, nous sommes arrivés à élaborer des règles assez précises que nous exposons ci-après.

RÈGLES DE L'EMPLOI DU SÉRUM EN MILIEU CONTAMINÉ. SÉRO-CONTAMINATION. — Soit une exploitation dans laquelle sévit la maladie. Le virus a pu être apporté par des animaux introduits récemment et provenant d'une porcherie infectée, ou encore on se trouve en face d'une poussée de peste consécutive à des atteintes antérieures ayant sévi sur le troupeau. Car, ici comme dans d'autres maladies microbiennes, la typhose aviaire par exemple, la transmission dans le temps et dans l'espace s'effectue souvent par l'intermédiaire des porteurs de germes. Dans un tel milieu, on trouve des animaux présentant les signes caractéristiques de la maladie et d'autres qui sont apparemment sains. Parmi ces derniers, les uns sont dans la première période de la maladie (hyperthermie sans signes cliniques), d'autres dans la période d'incubation et d'autres peuvent enfin être encore indemnes. Suivant le temps qui s'est écoulé depuis le début de la maladie, la proportion du nombre de sujets de chacune de ces trois catégories est très différente. Dans la peste du porc, le premier stade, caractérisé uniquement par l'élévation de la température, peut durer quatre ou cinq jours. A la fin de cette période, les troubles organiques sont déjà accusés et le sérum est parfois impuissant à les faire

disparaître. Pour les sujets qui sont en incubation, l'organisme protégé par le sérum a les plus grandes chances de faire une maladie légère qui déterminera l'établissement d'une immunité active de longue durée. Enfin, pour les sujets non encore infectés, le virus étant détruit dès sa pénétration dans l'organisme sans effort de la part de ce dernier, on ne peut espérer autre chose qu'une immunité passive de trois semaines environ.

On voit donc que l'on aura des résultats très différents suivant le moment où le sérum sera injecté. C'est, en effet, ce que nous avons constaté au cours des interventions déjà nombreuses qui ont été effectuées en Algérie.

Si on intervient trop tard, le sérum ne pouvant guérir des animaux déjà sévèrement atteints, quoique sains en apparence, les pertes seront assez élevées et pourront atteindre plus de la moitié des animaux sérumisés. Si, au contraire, l'intervention a lieu tout au début de la maladie alors que l'on a constaté seulement quelques signes suspects, il est certain qu'il existe encore des animaux non infectés chez lesquels l'injection de sérum ne déterminera qu'une immunité passive et la maladie recommencera trois semaines environ après l'intervention. Le danger pourra être conjuré par une nouvelle sérumisation, mais alors la méthode n'est plus économique.

Le succès, c'est-à-dire l'arrêt de la mortalité par une seule injection de sérum, dépend donc, en première ligne, du choix du moment de l'intervention. Si le vétérinaire est prévenu trop tard par l'éleveur, il n'appliquera pas le sérum sans avoir fait de fortes réserves sur le succès de l'opération. Mais quand il sera prévenu dès l'apparition de la maladie, il lui appartiendra de fixer lui-même la date de l'intervention, l'idéal étant d'opérer quand la plupart des animaux sont en période d'incubation. Ces conditions se trouvent réalisées quelques jours après l'apparition de la mortalité.

Mais, pour diverses causes telles que la disposition de la porcherie ou les conditions de l'élevage, il peut arriver que le cheptel porcin soit divisé en plusieurs lots inégalement infectés, certains même étant encore indemnes. Il serait dangereux de croire que ces lots échapperont à la maladie. Sans être aussi subtile que la contagion de la fièvre aphteuse, la puissance de diffusion de la peste porcine est suffisante pour

que, tôt ou tard, les lots menacés soient atteints à leur tour. Dans ce cas, il sera nécessaire d'opérer en plusieurs temps : on sérumisera les lots contaminés et on surveillera les autres pour intervenir au moment favorable. La surveillance sera utilement aidée par la prise fréquente de la température d'un certain nombre de sujets. Quand le nombre des fébricitants sera assez élevé, on se décidera à intervenir.

Dans ces milieux en période d'épizootie, le sérum seul est utilisé. Comme son pouvoir curatif est assez faible, on ne traite pas les animaux qui présentent des signes caractérisés tels que de la diarrhée, des quintes de toux, de la parésie. Le sérum est injecté seulement aux animaux apparemment indemnes, aux doses suivantes :

	CENTIMÈTRES CUBES
Porcs de 60 kilogrammes et au-dessus	50
Porcs de 40 à 60 kilogrammes	40
Porcs de 30 à 40 kilogrammes	30
Porcs de 20 à 30 kilogrammes	20
Porcs de 10 à 20 kilogrammes	15
Porcs au-dessous de 10 kilogrammes	10

Une condition au moins aussi importante que le choix du moment de l'intervention consiste à favoriser au maximum la contamination des sujets sérumisés. Pour cela, il sera utile de conserver jusqu'à la mort des animaux malades qui n'auront pas été traités et de les laisser au contact des sujets qui ont reçu le sérum. Les attaques *réitérées*, par le virus, des animaux protégés contribueront à l'établissement d'une immunité active durable. La contamination sera également favorisée par le séjour des animaux dans des stalles contenant des litières souillées par les matières virulentes. Il faut réaliser, en quelque sorte, une véritable *séro-contamination*.

INDICATIONS DE L'EMPLOI DU SÉRUM. — D'après ce qui précède, on voit que l'usage du sérum se limite à peu près exclusivement à la séro-contamination. Cependant, on pourrait l'utiliser encore pour soustraire des animaux de valeur à des chances d'infection, restant bien entendu que ces chances d'infection sont légères, telles celles qui résultent de la contamination indirecte. Des animaux sérumisés pourraient ainsi voyager sans

risques dans des wagons suspects. Ils pourraient également occuper pendant quelques jours des locaux dont on n'est pas bien sûr. Il faut savoir, en effet, que le virus pestique est, en dehors de l'organisme, un virus fragile. Il est facile de le détruire par une désinfection même sommaire. La putréfaction en vient rapidement à bout.

Enfin, le sérum sera surtout utile pour protéger les tout jeunes animaux et par conséquent pour permettre l'élevage dans une porcherie où règne la peste porcine. Nous étudierons ce traitement des jeunes dans un chapitre spécial.

CRITIQUE DE LA SÉRO-CONTAMINATION. — Il n'est pas toujours avantageux d'attendre que la peste ait éclaté dans une exploitation pour lutter contre elle. Quand cette épizootie menace une porcherie, il est préférable d'en prévenir les effets désastreux par l'immunisation active des sujets sensibles. C'est pourquoi nous avons été amenés à mettre au point pour l'Algérie la méthode de la séro-inoculation.

C. — SÉRO-INOCULATION.

La mise au point en France d'une méthode de séro-inoculation était donc nécessaire.

A l'étranger, notamment aux États-Unis et en Europe Centrale, les auteurs déclarent obtenir de bons résultats par l'application de la séro-inoculation.

Mais il ne peut être question d'appliquer purement et à un pays déterminé les mêmes règles qui sont valables ailleurs. C'est qu'en effet le succès de la séro inoculation est conditionné par plusieurs facteurs : la qualité du sérum, le virus, les animaux. Il est donc indispensable d'étudier pour chaque pays les conditions dans lesquelles on doit opérer.

Les nombreux essais de séro-inoculation expérimentale ont été conduits à la fois au laboratoire et dans des exploitations particulières.

Au laboratoire, la séro-inoculation a été effectuée sur les troupeaux d'animaux producteurs de sérum et ces expériences ont permis de fixer approximativement les doses respectives de sérum et de virus nécessaires à une bonne

immunisation. En outre, la solidité de l'immunité a toujours été vérifiée par une sévère inoculation d'épreuve, pra-

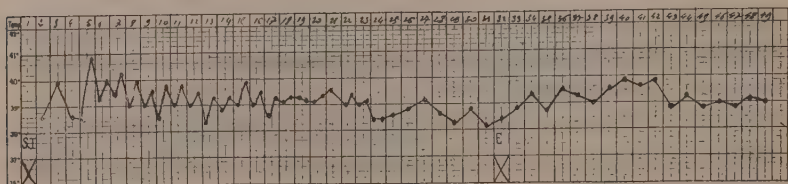


FIG. 14. — Séro-inoculation d'un porc de 15 kilogrammes, 10 cent. cubes de sérum; 0 c. c. 1 de virus. Épreuve le trente-deuxième jour.

tiquée après l'élimination du sérum (fig. 14, 15, 16, 17, 18).

Quant aux séro-inoculations réalisées dans les conditions de la pratique, elles ont la valeur d'expériences, car elles ont été

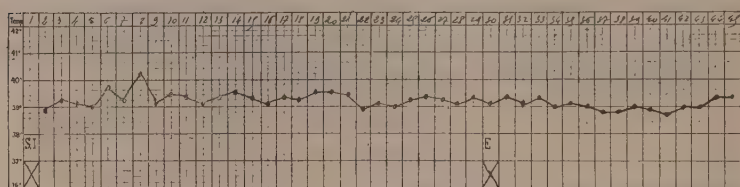


FIG. 15. — Séro-inoculation d'un porc de 30 kilogrammes, 20 cent. cubes de sérum; 0 c. c. 1 de virus. Épreuve le trentième jour.

étroitement surveillées et contrôlées (chaque animal étant identifié au moyen d'un numéro).

Il serait extrêmement difficile de présenter en détail les

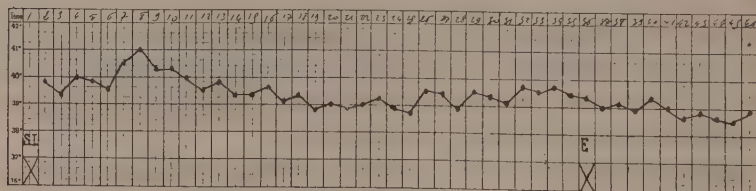


FIG. 16. — Séro-inoculation d'un porc de 40 kilogrammes, 20 cent. cubes de sérum; 0 c. c. 1 de virus. Épreuve le trente-sixième jour.

divers essais auxquels nous nous sommes livrés; aussi nous ne relaterons que quelques séries d'expériences, les plus propres à illustrer les règles que nous sommes arrivés à établir.

Tout au début la dose de virus employé était de 0 c. c. 2 récemment recueilli et la dose de sérum d'environ 1 cent. cube par kilogramme de poids vif. Les réactions étaient trop fortes puisque le pourcentage de morts était assez élevé : c'est ainsi que sur 23 animaux pesant de 35 à 40 kilogrammes et séro-inoculés avec 30 à 40 cent. cubes de sérum et 0 c. c. 2 de virus, on enregistre 4 morts.

Par contre, avec un virus conservé depuis plus longtemps, sur 29 animaux du même poids, il n'y eut que 2 morts.

Dans une autre expérience, 33 truies ayant reçu en même temps que le

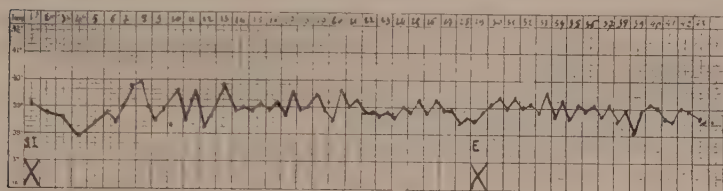


FIG. 17. — Séro-inoculation d'un porc de 50 kilogrammes, 30 cent. cubes de sérum ; 0 c. c. 1 de virus. Épreuve le vingt-neuvième jour.

sérum un virus trop récent montrèrent des réactions si fortes que 8 animaux moururent.

Par la suite, en inoculant seulement 0 c. c. 1 de virus conservé depuis un mois environ, en même temps que la quantité de sérum correspondante, la mortalité a été ramenée à 6-7 p. 100.

Beaucoup plus intéressantes sont les expériences effectuées hors du laboratoire sur un grand nombre de sujets.

A cet égard, nous avons eu la bonne fortune de pouvoir

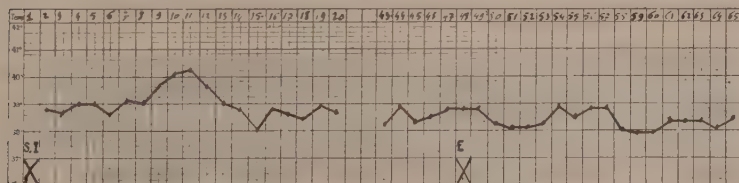


FIG. 18. — Séro-inoculation d'un porc de 60 kilogrammes, 40 cent. cubes de sérum ; 0 c. c. 1 de virus. Épreuve le quarante-huitième jour.

expérimenter pendant près de trois ans dans une exploitation où les animaux étaient renouvelés fréquemment.

Tout au début de notre intervention, la peste sévissait avec une telle intensité que l'élevage était très compromis. Nous avons d'abord amélioré les conditions de notre intervention

grâce à la sérothérapie seule, et par la suite tous les animaux furent soumis à la séro-inoculation dès leur arrivée à la porcherie.

Voici les résultats de quelques interventions :

1° 83 porcs de toutes tailles reçoivent de 25 à 50 cent. cubes de sérum et 0 c. c. 1 de virus. Les animaux réagissent à l'inoculation dans de bonnes conditions et on note seulement 4 morts.

2° 98 porcs de toutes tailles reçoivent de 10 à 60 cent. cubes de sérum et 0 c. c. 1 de virus; parmi ces animaux, 4 sont en mauvais état. On enregistre 14 réactions cliniques un peu fortes avec 8 morts parmi lesquels se trouvent les 4 animaux malingres.

3° 65 porcs reçoivent de 20 à 35 cent. cubes de sérum et 0 c. c. 1 de virus. Il y eut 5 morts par réaction vaccinale.

4° Dans un même troupeau de porcs on fait deux lots :

a) 47 bêtes, recevant de 25 à 60 cent. cubes de sérum et 0 c. c. 1 de virus, sont entretenues dans d'excellentes conditions hygiéniques et alimentaires. Pas de mort.

b) 65 bêtes, recevant de 30 à 60 cent. cubes de sérum et 0 c. c. 1 de virus, sont entretenues dans des conditions relativement mauvaises (ordures ménagères), 3 morts.

5° Un troupeau de 79 bêtes, atteint de variole, est séro-inoculé avec 15 à 40 cent. cubes de sérum et 0 c. c. 1 de virus. Il y a 8 morts, parmi lesquelles 5 varioleux.

6° La qualité de notre sérum s'étant améliorée grâce à la technique des chargements répétés et, d'autre part, les conditions de la séro-inoculation étant mieux établies, on traite 62 animaux avec 25 à 50 cent. cubes de sérum et 0 c. c. 1 de virus. On note seulement 2 morts. Dans cette expérience et des expériences suivantes qui ont donné des résultats analogues, nous avons réduit sensiblement la quantité de sérum.

7° Par contre, la séro-inoculation pratiquée sur un troupeau déjà infecté donne des résultats franchement mauvais : 57 porcs reçoivent 15 à 60 cent. cubes de sérum et 0 c. c. 1 de virus et on enregistre 27 morts.

De l'ensemble des expériences réalisées, nous pouvons indiquer les résultats suivants :

Au total, nous avons pratiqué la séro-inoculation sur 719 porcs et nous avons enregistré 91 morts, soit 14 p. 100. Mais il s'agit là d'un chiffre global où sont comprises les interventions effectuées dans les pires conditions, c'est-à-dire même en milieu infecté.

Du fait des circonstances, en effet, nous avons soumis à la séro-inoculation en milieu infecté 187 porcs sur lesquels 60 sont morts, soit 32 à 33 p. 100.

Par contre, en ne considérant que les interventions sur des animaux non infectés, nous obtenons les chiffres suivants : sur

532 porcs traités, nous avons eu 38 morts, soit 7 p. 100 environ. Nous devons ajouter que la majorité de ces animaux étaient entretenus dans de mauvaises conditions (alimentation au moyen des ordures ménagères d'une ville).

Ainsi donc, en se plaçant dans la situation la plus défavorable au point de vue des conditions d'entretien, la séro-inoculation ne détermine que 7 p. 100 de pertes, ce qui est fort peu de chose comparé au pourcentage des pertes dans la maladie naturelle (jusqu'à 90, 100 p. 100).

De trois années d'expériences ininterrompues, intéressant plusieurs centaines de porcs, nous pouvons tirer les conclusions suivantes en ce qui concerne l'Algérie :

a) La quantité de sérum doit être calculée de telle sorte qu'elle soit suffisante pour permettre aux animaux de résister à l'inoculation de virus. Mais elle ne doit pas être élevée au point d'arrêter la réaction due au virus. Il est en effet indispensable que les animaux présentent des réactions suffisantes à la faveur desquelles ils acquièrent l'immunité : sans réaction pas d'immunité. Au point de vue pratique, cela se traduit par la nécessité d'avoir quelques morts à la suite de la séro-inoculation, car cela prouve que les autres animaux ont réagi. De plus, à la séro-inoculation s'ajoute une séro-contamination due au virus éliminé par les malades, ce qui est très favorable à l'installation d'une solide immunité active. En outre, pour des raisons économiques, il faut toujours employer le moins de sérum possible.

b) La dose de virus à injecter est uniforme quel que soit le poids des animaux. Les grosses doses sont nuisibles, car il faut beaucoup trop de sérum pour les neutraliser et, d'autre part, les doses, même minimales, sont toujours infectantes puisque le virus pestique est actif à la dose de 1/1.000 de cent. cube. Pratiquement, la dose de 0 c. c. 1 est nécessaire et suffisante. Il ne faut pas non plus employer des virus récoltés depuis trop peu de temps. Il est préférable d'utiliser du virus conservé à la glacière depuis quatre semaines environ. Après ce délai de conservation, le virus est toujours égal à lui-même.

c) L'âge des animaux a aussi une grande importance. Nous nous sommes aperçus en effet que l'immunisation des porcelets à la mamelle est très difficile à obtenir. Quand ils sont issus de

mères immunisées, ils paraissent jouir d'une immunité temporaire qui les empêche de réagir à l'inoculation séro-vaccinale. Mais, au moment du sevrage, cette immunité disparaît et les animaux deviennent réceptifs. Au contraire, quand ils sont nés de mères sensibles à la peste, ils ne résistent pas à l'infection et meurent des suites de la séro-inoculation. Nous traiterons cette question dans un chapitre spécial.

d) Les résultats sont nettement différents suivant que l'on opère en milieu indemne ou en milieu contaminé. Dans ce dernier cas, et même si tous les autres facteurs sont favorables, on ne peut prévoir ce que seront les pertes. Dans tous les cas, elles seront très élevées, et on ne retirera aucun bénéfice de l'application de la méthode. Cela d'ailleurs ne saurait surprendre. C'est un fait de pathologie générale que les vaccinations en milieu contaminé exposent à des accidents quelquefois très graves. Dans certains cas, on remédie à ces inconvénients en vaccinant à l'abri du sérum; mais, dans la peste porcine, comme on utilise un virus non atténué dans un milieu où sévit déjà un autre virus, on ne peut aboutir qu'à un échec. Donc la séro-inoculation ne doit être effectuée que sur des animaux indemnes de peste.

e) A la suite de la séro-inoculation, les animaux présentent une réaction de peste légère, après une période d'inoculation de cinq à dix jours. La réaction dure cinq jours en moyenne, quelquefois davantage et la mortalité apparaît vers le quinzième jour. Au bout de vingt jours, l'immunité est acquise, et il s'agit d'une immunité solide qui pratiquement dure toute la vie économique de l'animal. Éprouvés un mois après la séro-inoculation, avec de grosses doses de virus (plusieurs milliers de doses mortelles) les animaux résistent. Si, par la suite, ils sont exposés à de nouvelles contaminations, celles-ci ne peuvent que renforcer l'immunité primitive.

Une séro-inoculation suivie de réaction confère l'immunité; on peut considérer que celle-ci est acquise vingt jours après l'intervention. A ce moment, toutes les réactions sont terminées et les animaux qui devaient succomber sont morts.

Lorsque l'on opère sur un grand nombre d'animaux, on s'aperçoit que certains ne s'immunisent pas. Le pourcentage d'insuccès est certainement très faible, mais il faut être averti

de ce fait, que le facteur individuel joue, ici, comme dans toute vaccination, un rôle indéniable, afin de ne pas imputer ces échecs à la méthode.

f) Dans la majorité des cas, la réaction vaccinale passe inaperçue au point de vue clinique, car elle ne se traduit que par de l'hyperthermie. Seuls, un certain nombre d'animaux présentent de l'inappétence et de l'abattement pendant quelques jours. C'est parmi ces derniers que l'on compte les morts. Cependant certaines catégories de sujets peuvent présenter des signes bruyants : ce sont les truies pleines qui avortent souvent mais non toujours, surtout lorsque la gestation est avancée. Sur des truies en lactation il peut y avoir aussi diminution de la sécrétion lactée et, dans des cas plus rares, tarissement définitif. Ceci doit toujours être pris en considération au moment de l'intervention, pour déterminer la conduite à tenir vis-à-vis de cette catégorie d'animaux.

g) Au cours de nos expériences, l'influence des conditions d'entretien des animaux aux points de vue hygiénique et alimentaire est apparue de la manière la plus nette. Des animaux identiques et soumis à la séro-inoculation avec le même sérum et le même virus accusent des pourcentages de pertes nettement différents en rapport avec les conditions d'entretien. Si, en tout temps, il est indiqué de bien nourrir les animaux, cette indication devient particulièrement impérative au cours des semaines qui suivent la séro-inoculation. On devra, à ce moment, donner une alimentation de choix : son, farine, vert, et cela, même aux animaux entretenus habituellement d'une manière économique (eaux grasses, ordures ménagères).

h) On doit encore se préoccuper, au moment de pratiquer la séro-inoculation, de plusieurs autres facteurs tels que la castration et les maladies intercurrentes. A moins de nécessité absolue, la pratique de la séro-inoculation est contre-indiquée sur les animaux en état de moindre résistance; la castration récente serait de nature à le provoquer, de même et plus encore des maladies intercurrentes, comme la variole par exemple. Ce sont généralement les animaux qui se trouvent placés dans de telles conditions défectueuses qui fournissent les plus hauts pourcentages de mortalité.

i) Enfin, le côté économique de la question doit être envi-

sagé. A ce point de vue, il n'est pas indifférent de pratiquer la séro-inoculation à n'importe quel moment. Les animaux étant sevrés, il vaut mieux les immuniser lorsqu'ils sont robustes et bien habitués à leur régime définitif plutôt que d'attendre qu'ils soient devenus plus gros. De cette manière, l'opération nécessite moins de sérum et les pertes, s'il y en a, sont moins lourdes. De même, il vaut mieux traiter les truies en dehors de la période d'allaitement ou de la gestation, ou, tout au moins, tout à fait au début de celle-ci.

INDICATIONS DE LA SÉRO-INOCULATION. — De tout ce qui précède, il résulte en premier lieu que la séro-inoculation reconnaît des indications bien précises. Puisqu'elle confère une immunité active qui exige un certain délai pour s'établir, c'est essentiellement une méthode de prévention. On l'utilisera donc chaque fois que des troupeaux seront menacés par l'infection. Mais comme elle doit être pratiquée sur des animaux sains, elle ne sera pas effectuée sur des troupeaux au milieu desquels existent des malades. Donc, au début d'une épizootie dans une région déterminée, les troupeaux qui ne sont pas atteints les premiers bénéficieront sans conteste de la méthode si elle est appliquée de bonne heure.

Il est encore un cas particulier, qui intéresse toute une catégorie d'élevages de porcs, où elle donnera d'excellents résultats. C'est dans les exploitations où le cheptel porcin est renouvelé très rapidement. Fatalement, dans de telles conditions, se trouvent réunis des animaux de toutes provenances qui, tôt ou tard, seront infectés par les porteurs chroniques de germes existant parmi eux. Dans ce cas, il est indiqué de procéder de la manière suivante :

Si primitivement la peste porcine existe dans l'exploitation, on rétablit la situation par la sérothérapie, et tous les animaux qui seront introduits par la suite subiront la séro-inoculation dans les deux ou trois jours qui suivront leur arrivée.

Si, au contraire, l'exploitation se trouve seulement sous la menace de peste, on pratique la séro-inoculation d'emblée et l'opération sera renouvelée sur tous les animaux qui seront introduits par la suite.

D'ailleurs lorsque la peste porcine a sévi chez un proprié-

daire, ou lorsqu'une première fois la séro-inoculation a été pratiquée, comme il y a toujours des animaux porteurs de germes, il faut de toute nécessité soumettre les nouveaux animaux à la séro-inoculation hâtive pour éviter l'éclosion d'une nouvelle enzootie.

En résumé, la séro-inoculation est indiquée chaque fois que l'on veut immuniser préventivement des animaux indemnes et menacés de peste porcine. Elle est contre-indiquée dans les régions où la maladie n'existe pas.

TECHNIQUE DE LA SÉRO-INOCULATION. — Il est maintenant aisé de formuler les règles précises de la séro-inoculation contre la peste porcine.

1° La séro-inoculation sera pratiquée uniquement en milieu indemne, ou du moins sur des animaux sains chez lesquels la contamination ne peut remonter à plus de deux ou trois jours.

2° La séro-inoculation ne sera pas effectuée d'emblée sur les animaux à la mamelle.

3° Les animaux malingres, récemment châtrés, ou atteints d'une affection intercurrente, ne seront traités que sous les plus expresses réserves.

4° Pendant la durée de l'immunisation, c'est-à-dire pendant trois semaines, on aura tout intérêt à fournir aux animaux une alimentation de choix.

5° La dose de virus est uniforme dans tous les cas : 0 c. c. 1.

6° La dose de sérum est indiquée dans le tableau suivant :

	CENTIMÈTRES CUBES
Animaux de 10 à 20 kilogrammes	10
Animaux de 20 à 40 kilogrammes	15-20
Animaux de 40 à 50 kilogrammes	25-30
Animaux de 50 à 70 kilogrammes	35-40
Animaux au-dessus de 70 kilogrammes	45-50

7° Le virus et le sérum sont inoculés sous la peau en deux points différents, par exemple dans la région abdominale ou inguinale.

CRITIQUE DE LA SÉRO-INOCULATION. — En biologie, il n'existe pas de méthode parfaite, et la séro-inoculation contre la peste

porcine n'échappe pas à cette règle. Les objections que l'on peut lui opposer sont au nombre de deux : elle entraîne toujours une faible mortalité, elle crée des porteurs chroniques de germes. Si l'on examine les faits soigneusement, on s'aperçoit que ces objections sont surtout des objections de principe.

En effet, la mortalité consécutive à la séro-inoculation a été de 7 p. 100 dans nos expériences. Cette proportion est infime si on la compare à celle des pertes causées par la maladie naturelle et qui atteint 90 à 100 p. 100. La seule comparaison de ces deux chiffres suffit à montrer tout le bénéfice que l'on peut retirer de la méthode, ce que comprennent fort bien les propriétaires qui ont expérimenté ce procédé d'immunisation.

La séro-inoculation crée des porteurs chroniques de germes, mais la maladie naturelle en crée bien davantage et il ne paraît pas que la séro-inoculation puisse contribuer beaucoup à la diffusion de l'infection. Au contraire, il est bien certain que la maladie naturelle reculera à mesure que la pratique de l'immunisation se généralisera. Si l'on s'en tient aux faits d'expérience, la pratique suivie et régulière de la séro-inoculation de tous les effectifs a démontré que la méthode était avantageuse. Il est indéniable que la séro-inoculation permet l'immunisation préventive, le choix du moment de l'intervention et la limitation des pertes à un niveau très bas. Ces considérations seules nous paraissent de nature à la faire rechercher. C'est d'ailleurs l'avis de tous les éleveurs qui ont expérimenté en Algérie la séro-inoculation contre la peste porcine.

D. — IMMUNISATION DES TOUT JEUNES PORCELETS.

Il arrive souvent, quand on intervient dans un élevage, que l'on se trouve en présence de porcelets nés depuis quelques semaines et encore à la mamelle.

Quand il s'agit d'un milieu contaminé, il faut, bien entendu, injecter du sérum à ces jeunes animaux. Mais l'expérience nous a montré que, dès après le sevrage, les porcelets deviennent sensibles à la peste. A l'inverse de ce qui se passe pour les adultes, la séro-contamination n'a pas eu pour résultat de leur conférer une immunité active de longue durée. C'est ainsi que des animaux qui avaient reçu 10 centicubes de sérum à l'âge

d'une semaine ont contracté la peste deux mois après, quand ils venaient d'être sevrés. Le sérum qu'ils avaient reçu leur avait permis de résister à une contamination massive, car la mortalité par la peste avait été assez considérable dans cette porcherie, mais l'immunité avait été toute passagère.

Quand on intervient en milieu indemne, nous avons vu, dans le chapitre précédent, que la séro-inoculation donne des résultats très incertains sur les animaux à la mamelle. Pourtant, on est obligé de les protéger, car, si la mère est soumise à la double intervention, elle fera, quelques jours après, une maladie légère au cours de laquelle elle éliminera du virus qui infectera ses petits. Ces derniers succomberont pour la plupart à la peste.

Ces diverses considérations nous ont fait adopter la méthode suivante qui est applicable aussi bien en milieu indemne qu'en milieu contaminé : les porcelets à la mamelle seront seulement sérumisés. Quelque temps après le sevrage, ils seront soumis à la séro-inoculation.

Cela nécessite deux opérations; mais, en raison de la petite quantité de sérum nécessaire chaque fois (10 centicubes), cette façon d'opérer reste tout de même économique. D'ailleurs, c'est la seule qui, jusqu'ici, nous a permis de mener à bien l'élevage des petits animaux.

E. — ESSAIS DE SENSIBILISATION.

Après avoir observé l'augmentation de la valeur du sérum par la technique des rechargements successifs, nous avons voulu voir s'il était possible de sensibiliser le virus pestique.

Nous nous sommes servis d'un sérum provenant de truies qui avaient reçu plus de 3 litres de sang virulent en 6 chargements échelonnés sur une durée d'environ trois mois. Le sérum employé était chauffé pendant une heure à 56° à deux reprises et sunoxolé à 1 p. 9.000.

Le virus était constitué par la rate, les reins, et les ganglions hémorragiques d'un porcelet sacrifié en pleine réaction de peste expérimentale. Ces organes étaient broyés; la pulpe ainsi obtenue diluée dans trois parties d'eau physiologique, l'émulsion filtrée sur tarlatane et le filtrat centrifugé.

Le culot de centrifugation a été traité de diverses manières:

- 1° Une partie a été mélangée avec du sérum antipestique à raison de 1 gramme de culot pour 150 grammes de sérum;
- 2° Une partie à raison de 1 gramme de culot pour 300 grammes de sérum;
- 3° Une partie à raison de 1 gramme de culot pour 300 grammes de sérum normal de cheval;

4° Une partie a été conservée intacte, simplement diluée au 1/20 dans l'eau physiologique.

La sensibilisation a duré soixante-trois heures à la température de 15°. Au bout de ce temps, une partie des mélanges virus-sérum antipestique a été centrifugée ainsi que le mélange virus-sérum normal de cheval. Les culots recueillis ont été dilués au 1/20 dans l'eau physiologique.

20 février 1928 : 1° *Culot sensibilisé à 1 p. 300* :

a) Les porcelets 561 et 562 ont reçu 1 cent. cube (soit 5 centigrammes de culot).

b) Les porcelets 563 et 564 ont reçu 6 cent. cubes (soit 30 centigrammes de culot).

2° *Culot sensibilisé à 1 p. 150* :

a) Les porcelets 565 et 566 ont reçu 1 cent. cube.

b) Les porcelets 567 et 568 ont reçu 6 cent. cubes.

3° *Mélange sérum-virus à 1 p. 300*, resté en contact soixante-trois heures à 15°.

Le porcelet 569 a reçu 10 centicubes (ce qui correspond à 3 centigr. 6 de virus).

Le porcelet 570 a reçu 20 centicubes (ce qui correspond à 7 centigr. 2 de virus).

4° *Mélange sérum-virus à 1 p. 150* :

Le porcelet 571 a reçu 5 cent. cubes (ce qui correspond à 3 centigr. 6 de virus).

Le porcelet 572 a reçu 20 cent. cubes (ce qui correspond à 15 centigrammes de virus).

5° *Culot provenant du mélange virus-sérum normal de cheval* :

Le porcelet 573 a reçu 1 cent. cube (ce qui correspond à 5 centigrammes de virus).

Le porcelet 574 a reçu 6 cent. cubes (ce qui correspond à 30 centigrammes de virus) :

6° *Culot de première centrifugation (virus pur)* :

Le porcelet 576 a reçu 1 cent. cube (5 centigrammes de virus).

Le porcelet 575 a reçu 6 cent. cubes (30 centigrammes de virus).

Tous les porcelets de cette expérience, à l'exception de ceux qui avaient reçu les mélanges sérum-virus, ont fait des réactions classiques de peste expérimentale et ont succombé entre le 2 mars 1928 et le 2 avril 1928. Il n'a pas été possible de constater la moindre atténuation du virus qui était resté en contact avec le sérum antipestique, puis centrifugé. Il n'y avait donc pas eu de sensibilisation.

Une autre expérience de sensibilisation, tentée plus tard dans des conditions analogues, a donné exactement les mêmes résultats.

Les quatre animaux inoculés avec les mélanges sérum-virus ont fait de faibles réactions thermiques de deux à quatre jours après l'inoculation. Éprouvés un mois après en même temps qu'un porc témoin, ils n'ont présenté aucun signe de maladie tandis que l'animal-témoin succombait en neuf jours. Les 4 animaux avaient donc été immunisés par l'inoculation d'un mélange de sérum et de virus.

Deuxième essai d'immunisation par inoculation de mélange sérum-virus.

31 mars 1928. Des mélanges de virus-sérum antipestique à 1 p. 50 et à 1 p. 150 sont préparés dans les mêmes conditions que dans l'expérience précédente.

2 avril 1928. Deux porcs A et B reçoivent 10 centicubes du mélange au 1/150 (deux jours de contact).

4 avril 1928 : a) *Mélange au 1/50* (quatre jours de contact).

Le porcelet 586 reçoit 5 centicubes de mélange.

Le porcelet 585 reçoit 10 centicubes de mélange.

b) *Mélange au 1/150* (quatre jours de contact).

Le porcelet 583 reçoit 5 centicubes de mélange.

Le porcelet 584 reçoit 10 centicubes de mélange.

Le reste est conservé en glacière.

16 avril 1928 : Le porcelet 558 reçoit 5 centicubes du mélange à 1 p. 150 (quatre jours de contact à 16° + douze jours de conservation en glacière).

Le porcelet 559 reçoit 5 centicubes du mélange à 1 p. 50.

Voici les résultats de l'expérience :

Les deux porcs A et B ont fait une très forte réaction de peste expérimentale et ont fini par succomber.

Les porcs 585 et 586 (mélange au 1/50, contact quatre jours) ont fait une légère réaction thermique, une semaine après l'inoculation. Ils n'ont présenté aucun signe clinique. Eprouvés au bout d'un mois, ils ont parfaitement résisté.

Les porcs 583 et 584 (mélange au 1/150, contact de quatre jours) ont très bien supporté l'inoculation sans réaction thermique ou clinique. Mais à l'épreuve effectuée un mois après ils ont succombé à la peste. Ils n'avaient donc pas été immunisés par l'inoculation du mélange sérum-virus.

Enfin, les porcelets 558 et 559 ont parfaitement supporté l'inoculation des mélanges sérum-virus, mais ils n'ont pas résisté à une épreuve pratiquée un mois plus tard.

Les meilleures conditions paraissent donc être : taux mélange, 1/50; durée du contact, quatre jours.

Troisième essai d'immunisation par inoculation du mélange de sérum-virus.

En raison du succès obtenu sur les porcs 585 et 586 de l'expérience précédente, nous avons essayé de le renouveler et de le compléter. Nous avons, par conséquent, préparé un mélange de sérum et de virus à 1 p. 50 et nous l'avons utilisé ainsi qu'il est dit ci-après :

24 mai 1928. *Mélange préparé extemporanément.*

Le porcelet n° 20 reçoit 5 cent. cubes du mélange.

26 mai 1928. *Mélange après quarante-huit heures de contact à 19°.*

Les porcelets 21 et 22 reçoivent 5 cent. cubes du mélange.

29 mai 1928. *Mélange après cinq jours de contact à 19°.*

Les porcelets 23 et 24 reçoivent 5 cent. cubes du mélange.

1^{er} juin 1928. *Mélange après cinq jours de contact à 19° et trois jours à 0°.*

Les porcelets 28, 29 et 30 reçoivent 5 cent. cubes du mélange.

Aucun de ces animaux n'a supporté, sans une réaction thermique et clinique suivie de mort dans la plupart des cas, l'inoculation du mélange sérum-virus conservé pendant une durée variable. Le mélange sérum-virus s'est montré cette fois aussi virulent que le virus pur.

Les succès qui ont été obtenus par cette méthode sont par conséquent dus au hasard. Il est arrivé, dans les cas heureux, que le sérum neutralisait à peu près la quantité de virus ino-

culé en même temps que lui. Or, cette quantité est variable suivant les animaux producteurs de virus. Tantôt elle est trop forte et, dans ce cas, le mélange sérum-virus est trop virulent (cas de la troisième expérience); tantôt elle est trop faible et le sérum alors l'emporte tellement sur le virus que celui-ci est neutralisé complètement et alors les animaux ne sont pas immunisés (deuxième expérience, porcs 583, 584, 558 et 559); tantôt enfin la quantité de virus correspond bien à la dose de sérum injectée et le mélange est à la fois efficace et inoffensif. Malheureusement, il est impossible de doser pour tous les porcs producteurs de virus le nombre d'unités virulentes contenues dans leurs organes. La méthode des mélanges sérum-virus donnant des résultats trop incertains ne saurait être utilisée dans la pratique. Nous avons vu dans ce même chapitre que, dans les conditions actuelles, la sensibilisation n'est pas un procédé d'atténuation du virus de la peste du porc.

V. — Conclusions.

Des recherches que nous avons entreprises sur l'immunisation contre la peste porcine, nous pouvons dégager les conclusions suivantes :

1° Les vaccins contre les bactéries des complications de la peste ne donnent aucun résultat utile dans la pratique.

2° Il est pratiquement impossible d'immuniser les porcs par le virus formolé.

3° Dans les conditions actuelles, le virus de la peste du porc ne peut être sensibilisé.

Ce virus apparaît ainsi comme le moins maniable des virus filtrants en ce qui concerne sa transformation en vaccin. C'est pourquoi on est obligé de recourir aux seuls modes d'immunisation basés sur l'emploi du sérum provenant de porcs hyper-immunisés.

4° La préparation du sérum contre la peste porcine, rendue pénible à cause de l'indocilité des animaux producteurs, est pourtant relativement aisée même quand on veut obtenir de grandes quantités. Notre technique des chargements répétés suivis de saignées aux veines jugulaires et mammaires est

facile à appliquer. On sait que la saignée à la jugulaire est pratiquée en Amérique. Par contre, nous n'avons vu nulle part que l'on ait songé à utiliser la veine mammaire qui, chez certaines truies âgées, est aussi perceptible et aussi facile à ponctionner que la veine jugulaire d'un cheval. Notre technique des saignées aux veines nous apparaît en tout cas bien supérieure à la section de la queue qui, du reste, en Algérie, ne peut donner que d'infimes quantités de sang.

3° Le sérum antipestique s'emploie de deux façons :

a) En milieu contaminé il est injecté seul à un moment judicieusement choisi ;

b) En milieu indemne menacé par la peste, on associe le sérum et le virus. Il en résulte quelques pertes négligeables si on les compare à celles qui sont observées dans la maladie naturelle.

Quand on intervient pour la première fois dans une exploitation infectée, il faut nécessairement commencer l'assainissement par la sérumisation. Il faudra ensuite se défendre contre les retours offensifs de la maladie par des séro-inoculations pratiquées sur les animaux de repeuplement qu'ils viennent de l'extérieur ou qu'ils soient constitués par les nouvelles générations de l'élevage primitif.

6° Les porcelets à la mamelle seront sérumisés puis séro-inoculés quelque temps après le sevrage.

7° Les résultats obtenus jusqu'ici sont très encourageants. Ils permettent soit l'élevage, soit l'engraissement du porc en Algérie qui est cependant un pays très infecté par la peste.

8° L'immunisation des porcs contre la peste est donc réalisable pratiquement. Ce moyen de lutte contre la maladie doit donner plus de résultats que la mise en jeu des mesures sanitaires actuelles. La dénomination de « pneumo-entérite » qui se trouve dans les législations française et algérienne a créé une confusion regrettable. En Algérie, la pneumo-entérite n'existe pas. Toutes les fois que nous avons eu affaire à une maladie rouge du porc qui n'était pas le rouget, nous avons trouvé à l'origine le virus filtrant de la peste. La situation n'est pas la même en France. Là, en effet, on rencontre l'entérite infectieuse due à *B. suispestifer* et la pneumonie contagieuse due soit à *B. suissepticus* ou à un streptocoque. L'ensemble de

ces deux maladies constitue le groupe des pneumo-entérites pour lequel la législation édictée par les articles 49 à 56 du Code rural est peut-être bonne. Mais à côté de ces pneumo-entérites il existe manifestement des foyers de peste porcine dans lesquels les bactéries précitées ne jouent qu'un rôle tellement secondaire qu'il peut être négligé. Ici, c'est le virus filtrant qui est en cause et lui seulement. Or, les mesures sanitaires édictées contre la pneumo-entérite restent dans ce cas sans effet. Elles sont non seulement inefficaces, mais encore elles donnent aux éleveurs une fausse sécurité puisqu'elles libèrent après quarante-cinq jours d'observation des animaux guéris de peste. C'est cependant parmi ces animaux rendus à la libre pratique que se trouvent les propagateurs de la maladie, les porteurs chroniques de germes.

La lutte contre la peste porcine doit, à notre avis, être basée sur deux points essentiels : établissement d'un diagnostic précis d'abord, immunisation des sujets sensibles ensuite. Ces deux opérations devront être effectuées et contrôlées par le service sanitaire vétérinaire. Mais ce service ne pourra avoir d'action utile que si les éleveurs de porcs ont été éduqués au préalable. Il faut arriver à leur faire comprendre que le prix assez élevé de la vaccination et les quelques pertes qui suivent inévitablement les opérations vaccinales seront largement compensés par la sécurité avec laquelle ils pourront conduire leur élevage que l'on sait être si rémunérateur.

Pour notre part, il nous suffit d'avoir montré que les méthodes qui ont donné à l'étranger de si bons résultats sont applicables à l'Algérie et à la France. Nous déclarons, enfin, que, malgré les perfectionnements que nous avons apportés à diverses techniques, la préparation de grosses quantités de sérum antipestique exige un personnel nombreux, actif et bien entraîné, un travail continu, un effort persévérant.

(Institut Pasteur d'Algérie.)

ÉTUDES SUR LA FLOCCULATION DES MÉLANGES DE TOXINE ET D'ANTITOXINE TÉTANIQUES

par E. DARZINE.

(*Institut d'Hygiène de l'Université de Lettonie à Riga.*)

• I. — Introduction historique.

Au début des études sur la précipitation, ce phénomène était assimilé au phénomène d'agglutination (F. Vidal, R. Kraus, Ch. Nicolle). Ce n'est que plus tard qu'ils ont été séparés, pour suivre dans leur étude deux voies distinctes. Cette séparation fut beaucoup favorisée par Ehrlich et son école qui enseignaient la diversité des anticorps. Aujourd'hui, on tend de plus en plus à les rapprocher de nouveau l'un de l'autre.

Ce n'est qu'en 1909 que nous arrivons à une étude plus approfondie de la flocculation des mélanges de toxines bactériennes et de sérums homologues. C'est à cette époque que paraît l'étude de A. Calmette et L. Massol sur la flocculation des mélanges de venin de cobra et de sérum homologue. Ce travail a eu une grande influence sur le développement ultérieur du problème. A partir de ce moment, toutes les expériences de titrage des sérums par la méthode *in vitro* sont basées sur le travail de Calmette et Massol. Il en est ainsi, par exemple, de l'étude de M. Nicolle, E. Debains et E. Césari, parue en 1919, sur la précipitation des mélanges toxine-antitoxine, ainsi que des travaux de G. Ramon.

En ce qui concerne le phénomène de la flocculation et les substances réagissantes, les premiers expérimentateurs, ayant adopté l'idée de l'unité des agglutinines et des précipitines, leur terminologie est assez simple. Plus tard, lorsqu'on eut abandonné cette idée, la terminologie se compliqua de plus en plus. On créa alors des termes différents, non seulement pour les produits de la flocculation des mélanges de filtrats de cultures bactériennes et de sérums homologues,

mais encore pour désigner les parties inconnues des antigènes et des anticorps agissant dans les réactions.

Certains expérimentateurs, préférant la terminologie primitive et assimilant en quelque sorte la floculation des mélanges toxine-antitoxine à la réaction spécifique de précipitation, dénomment les anticorps « précipitines » et désignent la réaction elle-même par le terme de « précipitation » (A. Glenny, W. Scholz, M. Eisler, etc.).

Ramon, considérant que le phénomène en question, loin d'être une réaction semblable à la précipitation, est produit par une union spécifique de toxine et d'antitoxine,* propose de le dénommer « floculation ». Ce terme a pris une très grande extension de nos jours ; mais son sens commence à varier : quelques expérimentateurs ne faisant pas de distinction entre la floculation et la précipitation ont pris l'habitude de dire « floculation » au lieu de « précipitation » (Glenny, Iwanoff, Weinberg). D'autres vont plus loin encore. Ainsi, par exemple, M. Weinberg et J. Barrotte ont donné le nom de « floculine » aux composés floculants. La différence entre les floculines et les substances déjà décrites qui agissent dans la réaction de floculation reste obscure.

II. — Floculation des mélanges de toxine et d'antitoxine tétaniques et dosage du pouvoir antitoxique de l'antitoxine tétanique.

Le titrage d'une antitoxine par la méthode de floculation n'a été utilisé jusqu'à maintenant que pour l'antitoxine diphtérique.

G. Ramon, que nous pouvons considérer à juste titre comme le créateur de la méthode *in vitro*, nous parle en passant de la floculation des mélanges de toxine et d'antitoxine tétaniques, et suggère la possibilité de l'emploi de cette méthode pour le titrage des antitoxines tétaniques.

Le véritable sens de la remarque de Ramon, c'est plutôt, croyons-nous, que le phénomène de floculation est un phénomène général, c'est-à-dire qui se produit dans les mélanges de diverses toxines et antitoxines. Ainsi, par exemple, J. Bronfenbrenner et P. Reichert observent la floculation des mélanges toxine-antitoxine botuliniques ; M. Weinberg, A. Prévot et Goy

essayaient d'appliquer la technique de floculation au titrage *in vitro* des sérums antigangréneux qu'ils avaient préparés; O. Povitzky décrit la floculation des mélanges toxine-antitoxine du streptocoque de la scarlatine et procède à des essais d'application de cette méthode au titrage de la toxine et de l'antitoxine du streptocoque de la scarlatine; M. Eisler et N. Kovács signalent, dans un ouvrage fort long et très documenté, la floculation des mélanges de l'hémotoxine et l'antitoxine du vibron Kadiköj; J. Dumas, G. Ramon et Saïd Bilal nous rendent compte de la floculation des mélanges toxine-antitoxine dysentériques, etc.

La floculation est donc, on ne saurait en douter, une propriété commune à tous les mélanges de toxine et d'antitoxine, que ce soit une exotoxine ou une endotoxine. Mais comme nous l'avons déjà indiqué, la question n'a été vraiment étudiée que pour les mélanges toxine-antitoxine diphtériques.

Quelque temps après que Ramon eut signalé la floculation des mélanges toxine-antitoxine tétaniques, parut le travail de W. Scholz dans lequel, se rapportant à ses essais, l'auteur conclut à l'impossibilité pratique, pour le moment, d'employer la méthode de floculation au titrage des antitoxines tétaniques.

Quelques années plus tard, G. Abt et B. Erber, se fondant sur leurs expériences au Laboratoire de Sérothérapie de l'Institut Pasteur de Paris, trouvent par contre qu'il est possible de titrer une antitoxine tétanique, à 90 p. 100 près, par la floculation.

Dans un ouvrage paru au commencement de 1928, S. Schmidt traite longuement des problèmes se rapportant à la floculation des mélanges toxine-antitoxine tétaniques. A son avis, le titrage des antitoxines tétaniques par la méthode de Abt et Erber peut donner d'assez bons résultats approximatifs.

Mais D. Kalic, dans un travail suivant de près celui de Schmidt, est plus pessimiste. Lui aussi, il avait expérimenté au Laboratoire de Sérothérapie de l'Institut Pasteur de Paris, mais il n'avait trouvé que 39 p. 100 de résultats concordants *in vivo* et *in vitro*.

Le problème du dosage du pouvoir antitoxique des antitoxines tétaniques par la méthode de floculation reste donc peu avancé.

En 1926, j'eus l'honneur de pouvoir entreprendre au Laboratoire de Sérothérapie de l'Institut Pasteur de Paris des recherches sur ce problème, sous l'aimable direction de M. le D^r Martin,

et je fus obligeamment conseillé par MM. les D^{rs} Abt et Loiseau.

J'ai employé les sérums préparés à l'Institut de Garches, que celui-ci avait fait parvenir au laboratoire du D^r Martin aux fins de leur titrage *in vivo*.

Parmi quelques centaines de sérums de chevaux immunisés contre le tétanos, j'ai choisi 45 échantillons dont le titre au titrage *in vivo* préalable s'était révélé constant et bien défini. Pour me rendre compte de la précision des méthodes *in vivo* et *in vitro*, j'examinai encore 15 sérums sur l'animal, afin de vérifier leur pouvoir antitoxique. Ceci fait, j'ai procédé à des essais de détermination de leur pouvoir antitoxique par la méthode de floculation.

La technique que j'ai employée était celle de G. Abt et B. Erber : 10 à 12 tubes de grandeur moyenne et bien stérilisés reçoivent chacun 4 cent. cubes de toxine tétanique préalablement titrée au sérum étalon ; on ajoute, à l'aide d'une pipette stérilisée, une quantité correspondante de sérum à titrer. J'avais déterminé la quantité à ajouter de façon que l'optimum du mélange se trouvât au milieu de l'échelle des tubes, cette quantité allant en augmentant vers la droite (maximum de sérum) et diminuant vers la gauche (minimum de sérum). On mélange bien les deux liquides et l'on dépose les tubes dans un bain-marie à 45° C. On calcule la valeur du sérum ajouté de la manière habituelle, d'après le tube initial.

J'ai examiné le contenu des tubes toutes les cinq à quarante minutes, suivant la vitesse de floculation (G. Abt et B. Erber se sont bornés à les observer entre la deuxième et la quatrième heure, puis entre la septième et la huitième, puis après la vingtième).

La floculation initiale dans les mélanges de toxine et antitoxine diphtériques dépend du nombre d'unités antitoxiques contenues dans le sérum. En admettant ce postulat pour la floculation des mélanges toxine-antitoxine tétaniques, lorsqu'on dose d'après la floculation un des composés du mélange (sérum), l'autre (toxine) doit rester toujours pareil dans toutes les expériences successives. Ce n'est que dans ce cas qu'il sera possible de comparer les résultats obtenus. Aussi, dans toutes les réactions de floculation, la toxine est-elle préalablement titrée avec le sérum étalon, dont la valeur antitoxique a été déjà déterminée sur l'animal.

D'ordinaire, les sérums me parvenaient sept à huit jours après la saignée. Ainsi que le démontrent les expériences avec le sérum étalon, un sérum desséché, pourvu qu'on le tienne dans un endroit sec, froid et à l'abri de l'air, conserve ses qualités pendant des années entières. En vieillissant, le temps de floculation des sérums s'allonge, en même temps que l'optimum du sérum se déplace vers le maximum. Les sérums chauffés se comportent de même : en portant un sérum chauffé à 50° C, on observe une augmentation du temps de floculation et un léger déplacement de l'optimum vers le maximum.

En procédant à l'examen de sérums riches en antitoxine, on doit mesurer des quantités moindres que 0 c. c. 01, ce qui n'est pas toujours possible avec une pipette ordinaire. Pour obvier à cet inconvénient, j'ai dilué les sérums riches avec de l'eau physiologique stérile, de façon que 1 centimètre cube du sérum ne contienne pas plus de 200 unités antitoxiques.

Il fallait voir encore si les résultats de la floculation étaient les mêmes dans le sérum dilué que dans le sérum non dilué. Voici ce que j'ai constaté en comparant les floculations obtenues dans les deux cas :

Tableau comparatif des floculations d'un sérum non dilué et de sa dilution.

	QUANTITÉS DE SÉRUM FLOCCULÉ en centimètres cubes			
	A 16 heures	A 16 h. 50	A 17 heures	A 17 h. 30
Sérum non dilué	0,09	0,08 0,1	0,07	0,06
Sérum dilué (à 1/5)	0,045	0,38 0,40 0,42.0,44 0,42.0,44	0,35	0,30 0,32 0,34
Optimum : 0 c. c. 09 (soit 0 c. c. 45).				

Ainsi 1 cent. cube de ce sérum contient *in vitro* : non dilué 422,2 U. A., dilué 422 U. A. La floculation se fait donc d'une façon parallèle dans les deux cas : la dilution d'un sérum dans l'eau physiologique n'a aucune influence sur sa floculation, et les calculs finaux restent les mêmes. Ceci a été confirmé par de nombreuses expériences avec les sérums les plus divers.

Les 45 sérums examinés ont donné les résultats suivants :

NUMÉRO d'ordre	NUMÉRO du cheval à l'Institut de Garches	TITRE <i>in vivo</i> de l'Institut Pasteur (en unités antitoxiques américaines dans 1 cent. cube)	RÉSULTATS du titrage <i>in vivo</i> complémentaire (en unités antitoxiques américaines dans 1 cent. cube)	RÉSULTATS du titrage <i>in vitro</i> (en unités antitoxiques américaines dans 1 cent. cube)	TEMPS de floculation en heures
1	447	110	100	97,4	3
2	648	+ 180-200		190,0	3,10
3	311	170	170	146,2	1,50
4	187	+ 140-150		138,2	7,30
5	537	+ 200-250		253,3	10,20
6	28	+ 550-560		633,3	3,50
7	556	180		190,0	7
8	1.386	+ 130-140		118,7	1
9	234	+ 120-130		118,7	19,30
10	1.246	+ 130-140		128,8	2,30
11	230	+ 140-150		138,2	2,35
12	576	+ 50-60		49,3	3,45
13	537	+ 200-250		200,0	3,15
14	641	+ 670-680		690,9	4
15	484	+ 42-45		36,2	1,45
16	495	+ 28-30		29,2	2,15
17	637	+ 200-230		211,1	2,30
18	451	+ 48-50		40,0	2
19	632	+ 230-280		253,3	3,30
20	578	+ 180		135,7	1
21	567	+ 120-130		95,0	1,35
22	57	+ 120		84,4	1
23	1.390	+ 85-100		95,0	2,20
24	674	300	+ 300	140,7	1,20
25	614	140		135,7	3,30
26	165	+ 250-300	- 300	345,5	5
27	33	± 500	450	422,2	1
28	664	+ 420	+ 400-550	292,2	0,50
29	630	+ 700-750	700	405,2	1,25
30	176	+ 500-530		518,1	2,50
31	312	+ 650-700		660,8	2,30
32	316	+ 300-340		304,0	9
33	161	± 500	400	325,8	1,40
34	333	430		422,2	5,20
35	303	+ 320-350		304,0	1,50
36	302	+ 500-600	600	518,1	1
37	31	+ 680-700		844,4	6
38	180	+ 630-650	+ 600	271,4	1,30
39	8	± 120	+ 80-100	54,3	1,15
40	1.416	+ 70-75	+ 70	42,2	1,15
41	649	+ 280-300	+ 250	165,2	1,05
42	638	+ 305-400	+ 300	237,2	1,40
43	305	+ 350-370	+ 350	190,0	0,40
44	675	+ 125		73,0	1,30
45	560	120		?	0,40

Les 45 antitoxines tétaniques examinés à l'Institut Pasteur de Paris ont donc donné toutes une floculation vis-à-vis de la toxine tétanique.

Or, G. Abt et B. Erber, dans le travail déjà indiqué, signalent que 8 p. 100 des sérums examinés n'ont pas présenté de floculation bien nette, qu'elle qu'eût été la durée du séjour au bain-marie.

Les méthodes, la toxine et le sérum étalon que nous avons employés étant les mêmes, les sérums fournis par la station de Garches provenant pour la plupart des mêmes chevaux, nos résultats devraient cependant coïncider.

La divergence obtenue est due à plusieurs causes : les expériences démontrent que la vitesse de floculation atteint son maximum dans le tube initial et va rapidement en diminuant des deux côtés de cet optimum. Il est donc facile d'envisager qu'à une certaine distance de l'optimum il peut y avoir des mélanges où la floculation sera très lente ou même complètement nulle. De même, on a souvent observé, surtout avec les sérums à floculation rapide, que ce n'est pas toujours l'optimum théorique, préalablement calculé en unités antitoxiques, qui donne la floculation initiale. De plus, les auteurs précités ont procédé par observations trop espacées (premier examen entre la deuxième et la quatrième heure), et les sérums à floculation rapide ont dû échapper à leur attention, ce qui a considérablement accru le pourcentage de résultats concordants *in vivo* et *in vitro* : nous verrons plus loin que ce sont justement les sérums à floculation rapide qui donnent le plus de résultats divergents.

Parmi nos 45 sérums examinés floculent :

En moins de deux heures	22 sérums, soit 48,89 p. 100, groupe I.
En deux à quatre heures	15 sérums, soit 36,34 p. 100, groupe II.
En quatre à huit heures	5 sérums, soit 11,11 p. 100, groupe III.
En plus de huit heures	3 sérums, soit 6,66 p. 100, groupe IV.

Nous voyons donc que, parmi les sérums examinés, presque la moitié (48,89 p. 100) sont à floculation rapide et floculent en deux heures et moins. Toute méthode se fondant sur l'observation de la vitesse de floculation doit donc prendre ce fait en considération. Dans l'intervalle des deux premières heures,

l'observation doit être répétée aussi souvent que possible. Ce n'est qu'à partir de la quatrième heure que le nombre de sérums floculés diminue d'une façon appréciable.

Ceci posé, voyons combien de sérums ont donné les résultats concordants *in vivo* et *in vitro*, quels sont les groupes auxquels ils appartiennent :

GROUPES	RÉSULTATS	POURCENTAGE de divergence ou concordance par rapport au groupe entier	POURCENTAGE de divergence ou concordance par rapport au nombre total des sérums
I. — 22 sérums floculant en 2 heures . .	Cas de concordance : 2. Cas de divergence : 20.	9,09 90,01	4,44 44,44
II. — 15 sérums floculant en 2 à 2 heures.	Cas de concordance : 14. Cas de divergence : 1.	93,33 6,67	31,11 2,22
III. — 5 sérums floculant en 4 à 8 heures.	Cas de concordance : 2. Cas de divergence : 3.	40 60	4,44 6,66
IV. — 3 sérums floculant en plus de 8 heures.	Cas de concordance : 3. Cas de divergence : 0.	100	6,67

Nous voyons donc que, parmi les 45 sérums examinés, 21, soit 46,67 p. 100, ont concordé *in vivo* et *in vitro*. Dans la détermination de cette concordance ou divergence, on s'est rapporté à la méthode *in vivo*. J'ai considéré les résultats *in vitro* comme étant concordants avec ceux *in vivo* lorsque leur différence ne dépassait pas 5 à 6 p. 100 des résultats *in vivo*.

En examinant les résultats obtenus par groupes, nous voyons que le groupe I donne 91 p. 100 de résultats divergents *in vivo* et *in vitro*, et seulement 9 p. 100 de résultats concordants. C'est le groupe des sérums à floculation rapide. Les résultats du groupe II sont inverses : 93 p. 100 de concordance et 7 p. 100 de divergence. C'est le groupe des sérums à floculation semi-rapide. Dans le groupe III, les deux catégories sont en proportions à peu près égales. C'est le groupe des sérums à floculation ralentie. Enfin, dans le quatrième et dernier groupe, nous observons une nouvelle augmentation des cas de concordance. C'est le groupe des sérums à floculation lente. Mais les deux

derniers groupes sont trop petits pour qu'on puisse en tirer un pourcentage exact.

Nous sommes donc en présence d'un fait important : *les antitoxines tétaniques qui flocculent en un temps déterminé* (en deux à quatre heures) *nous donnent seules des résultats concordants in vitro et in vivo*. Les sérums à flocculation rapide, compris dans le groupe I, donnent pour la plupart des résultats plus élevés *in vivo* que *in vitro*; plus la vitesse de flocculation devient grande, plus les résultats *in vitro* sont moindres que ceux *in vivo*. Le temps de flocculation augmentant, s'approchant de deux heures, il peut y avoir aussi dans le groupe I quelques sérums concordant *in vivo* et *in vitro* (par exemple le sérum 27). La concordance atteint son point culminant entre la deuxième et la quatrième heure, puis va en diminuant, pour se relever de nouveau dans le groupe IV. Mais alors, contrairement à ce qui se passe dans le groupe I, les résultats *in vitro* marquent une tendance lente, mais bien marquée, à dépasser les résultats *in vivo*. Donc plus la flocculation est lente, plus les résultats *in vitro* dépassent les résultats *in vivo*.

On peut représenter les résultats obtenus par un tracé graphique. Portons en abscisses les valeurs du temps de flocculation, exprimé en heures, et en ordonnées les valeurs correspondantes du nombre de sérums flocculés. En joignant les points ainsi obtenus par une ligne (en pointillé), nous obtenons une courbe dont le point le plus élevé se trouve entre zéro et la deuxième heure et correspond au maximum du nombre de sérums flocculés. Nous obtenons une autre courbe en joignant par une ligne (en trait plein) les points obtenus en portant en abscisses les valeurs du temps de flocculation et en ordonnées les valeurs correspondantes du nombre de sérums concordants *in vivo* et *in vitro*. Le sommet de cette dernière courbe se trouve entre la deuxième et la quatrième heure et correspond au maximum du nombre de sérums concordants. Les sommets respectifs des deux courbes ne coïncident pas, ce qui exprime que les maxima correspondants dans les mélanges toxine-antitoxine, tétanique vont de même.

Les résultats peuvent devenir très erronés lorsque la flocculation se produit dans le dernier ou dans les derniers tubes

de l'échelle des mélanges. Il serait inexact de considérer dans ce cas la floculation comme initiale. Ainsi par exemple, le sérum 38, dilué à 1/5, flocule à la première expérience en quatre heures dans le dernier tube contenant 0 c. c. 28 de sérum, ce qui nous donne 678,5 unités antitoxiques par centimètre cube. Une autre fois, en prenant des quantités plus

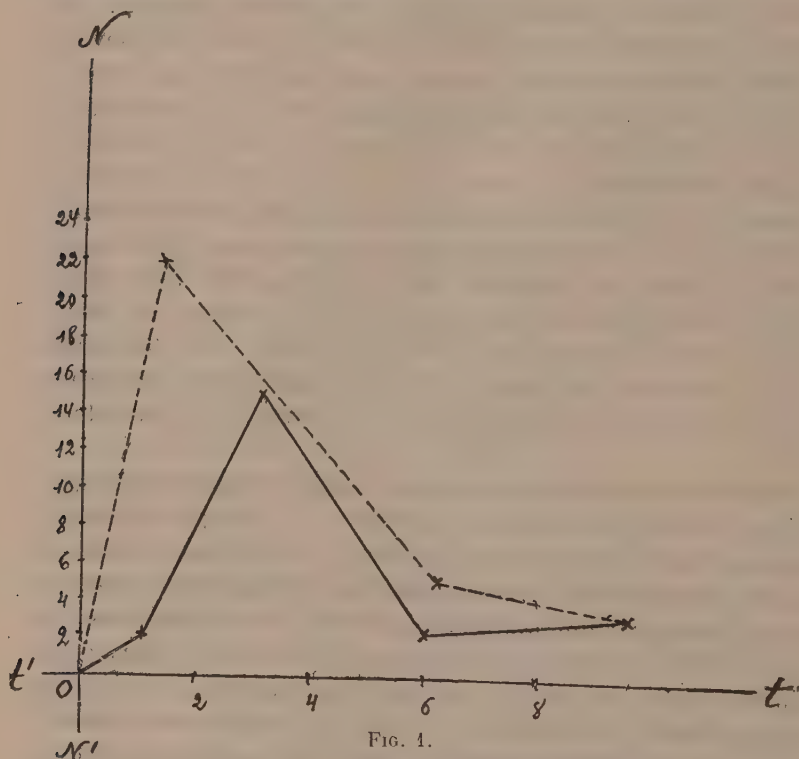


FIG. 4.

grandes de sérum, la floculation se produit de nouveau dans le dernier tube de l'échelle (0 c. c. 32 de sérum), bien que le tube optimum de la première expérience (0 c. c. 28) soit également compris dans l'échelle des mélanges. Celui-ci n'est plus le tube optimum. L'optimum, à présent, est donné en trois heures dix minutes par 0 c. c. 32 de sérum, ce qui nous donne 593,5 u. a. par centimètre cube de notre sérum. A la troisième expérience sur le même sérum, nous voyons que l'optimum continue toujours de monter, jusqu'à 0 c. c. 36, le temps de floculation descendant à deux heures cinquante minutes. En

calculant le pouvoir antitoxique du sérum, nous n'obtenons plus que 527 u. a. par centimètre cube. A la quatrième expérience, on prend le sérum non dilué sur une échelle de tubes très longue, jusqu'à ce que la flocculation initiale soit de 0 c. c. 14 de sérum non dilué (soit 0 c. c. 70 de sérum à 1/5), ce qui nous donne 271,4 u. a. par centimètre cube *in vitro*. La flocculation est alors très rapide, elle se produit en une heure trente minutes. Résultats analogues avec les sérums 39 et 40. A chaque expérience donc, floccule en premier lieu le tube optimum où, à défaut de celui-ci, le tube le plus proche de l'optimum. En approchant de l'optimum, le temps de flocculation va en décroissant et atteint son minimum à l'optimum. A partir de celui-ci, la flocculation continue des deux côtés. Il reste à voir si la marche est identique des deux côtés. On a expérimenté d'abord sur le sérum 38, en échelle de mélanges très longue. On a examiné les mélanges toutes les demi-heures. On observe une augmentation échelonnée de flocculation, allant du premier tube, contenant le minimum de sérum, vers l'optimum. A partir du tube initial, où il atteint son point culminant, le trouble va de nouveau en diminuant, dans la direction du maximum. Mais cette diminution est de beaucoup plus rapide que celle que l'on observe dans la direction du minimum. Les derniers tubes de la direction du maximum sont à peine troublés. La flocculation s'y produira très tard ou fera défaut. La courbe représentative de la flocculation des mélanges du sérum, en prenant pour sommet le tube initial, ne sera donc pas identique des deux côtés de ce sommet. Elle sera plus inclinée à droite, du côté du maximum, qu'à la gauche, du côté du minimum. Ceci a été déjà signalé par quelques expérimentateurs. Calmette et Massol l'expliquent par la dissolution du flocculat dans le sérum restant. Il peut y avoir, bien entendu, d'autres explications. Ce phénomène nous rappelle l'hépatisation des colloïdes flocculés. Dans quelques-uns des tubes contenant le sérum en quantités dépassant l'optimum, on observe, en les sortant du bain-marie, un trouble assez fort du liquide et parfois même des flocons tout formés. En refroidissant, le trouble diminue et les flocons disparaissent. Ainsi que nous le savons, on explique le phénomène d'hépatisation par l'échange des charges électriques des flocons.

III. — Des causes de divergence entre les résultats *in vitro* et les résultats *in vivo*. Observations sur le rôle primaire de la floculation dans la disparition du pouvoir toxique de la toxine et du pouvoir antitoxique de l'antitoxine.

Dans le cas idéal, on ne devrait s'attendre à observer la floculation que dans un seul tube de l'échelle de mélanges toxine-antitoxine tétanique. C'est ce qu'on a parfaitement constaté dans nombre d'expériences ; exemple : les sérums 5, 19, 36, etc... Pour obtenir la floculation, on doit prendre la toxine et l'antitoxine en proportions bien définies. De tels cas sont les plus favorables au dosage de la valeur antitoxique d'un sérum par la méthode de floculation (sérums antidiphthériques). Mais dans beaucoup de cas les mélanges toxine-antitoxine tétaniques ne présentent pas cette propriété. Ainsi, par exemple, les sérums 1, 2, 3 et d'autres floculent dans 2, 3 tubes voisins à la fois. En suivant d'une manière ininterrompue, minute par minute, la marche de la floculation, on trouve parfois un tube qui flocule quelques minutes avant les autres ; on peut déterminer ainsi l'optimum exact, mais pas toujours car des tubes contenant des quantités diverses d'antitoxine floculent assez souvent en même temps. Dans ce dernier cas, le titrage précis de l'antitoxine n'est plus possible, et l'on doit se contenter de chiffres approximatifs. Ainsi, par exemple, le sérum 1, dont la valeur est de 100 unités antitoxiques, et qui flocule simultanément à 0,38, 0,39 et 0,40 cent. cubes titré d'après le tube de 0 c. c. 38 nous donne 100 u. a., d'après le tube de 0 c. c. 39, 97,4 u. a., et d'après le tube de 0 c. c. 40, 95 unités antitoxiques par cent. cube. La divergence entre les deux tubes extrêmes est donc de (100 — 95) 5 unités antitoxiques par centimètre cube, soit 5 p. 100 de la valeur du sérum indiquée. Déjà dans l'exemple ci-dessus, dans une faible zone de floculation (de 0 c. c. 38 à 0 c. c. 40) pour un sérum de moyenne valeur (100 u. a.), nous obtenons une forte divergence quant à la valeur antitoxique du sérum. Plus la zone de floculation est large et plus le sérum est riche en antitoxine, plus les résultats sont douteux. Exemple : le sérum 6 ; + 550 — 600 u. a. par centimètre cube

in vivo; zone de floculation : 0,05, 0,06, 0,07 cent. cube. En calculant la valeur de ce sérum successivement avec 0,05, 0,06, 0,07 cent. cube, nous obtenons respectivement : 760, 633,3 et 542,9 unités antitoxiques par centimètre cube *in vitro*. Ici la divergence s'élève déjà à 217 U. A. par centimètre cube soit 36 p. 100 de la valeur indiquée. Il est difficile d'échapper à des erreurs même en diluant les sérums avec de l'eau physiologique, c'est-à-dire en transformant les sérums riches en antitoxine en sérums de moyenne valeur, car la multiplication d'une erreur même légère la grossit considérablement. On peut obtenir parfois une apparition plus définie de l'optimum et la disparition de la zone de floculation, en augmentant la différence de sérum dans les tubes voisins. Mais, de ce fait, la méthode devient grossière et l'on perd la possibilité de titrer l'antitoxine avec plus de précision.

Outre les deux groupes de sérums cités ci-dessus, nous devons examiner un troisième groupe qui, bien que ne comprenant qu'un petit nombre de sérums, est indispensable à la compréhension du problème. J'entends les sérums à zone de floculation continue et très large. Exemple caractéristique : le sérum 45. Il a été impossible de déterminer l'étendue de sa zone de floculation; dans plusieurs expériences, cette zone s'étendait sans interruption de 0 c. c. 20 jusqu'à 0 c. c. 48 de sérum. Dans ce sérum les qualités floculantes doivent donc dominer complètement les qualités antitoxiques. Il nous rappelle les sérums qui précipitent simplement une albumine de cheval. Il est impossible de déterminer sa valeur antitoxique avec la précision voulue par la méthode de floculation (le sérum 45 nous donne 103,5, 190 unités antitoxiques par centimètre cube).

A un quatrième groupe appartiennent les sérums donnant plusieurs optima ou plusieurs zones de floculation à la fois. (Exemple : les sérums 3, 22, etc. ; le sérum 3 flocule à la fois dans les tubes de 0,23, 0,24 et 0,27 centimètre cube.) Aussi, dans ces cas, la détermination de la valeur antitoxique ne peut-elle être qu'approximative.

Bien que j'aie opéré avec les mêmes toxines et antitoxines, sur des animaux d'expérience provenant du même élevage, et malgré que ces expériences fussent multipliées, les résultats

que j'ai obtenus *in vivo* ne concordaient pas toujours avec ceux trouvés par les collaborateurs de l'Institut Pasteur : le sérum 29 devait contenir 700 — 750 unités antitoxiques par centimètre cube; je n'en ai trouvé que 700. Pour le sérum 33, nous avons trouvé respectivement ± 500 et 400 u. a. ; pour le sérum 39 + 120 et + 80 — 100 unités antitoxiques par cent. cube. On n'a pas encore trouvé une explication plausible de ce fait.

Nous retrouvons des difficultés analogues en essayant de déterminer par la méthode de floculation les qualités toxiques et antigènes d'une toxine tétanique.

Ramon et bien d'autres expérimentateurs considèrent que la floculation est produite par l'union de la toxine et de l'antitoxine. Ils évaluent par la réaction de floculation les qualités antigènes d'une toxine, mais ils considèrent que celles-ci sont indépendantes des qualités toxiques.

L'étude de la toxine et de l'antitoxine tétaniques et de leurs mélanges se prête beaucoup plus à la solution du problème que l'étude de la toxine et de l'antitoxine diphtériques. Ce que nous avons trouvé de régulier et permettant de formuler des lois générales dans les mélanges toxine-antitoxine diphtériques nous révèle alors sa vraie nature.

La remarque de Calmette et Massol que le sérum des chevaux immunisés contre le venin de cobra flocule en présence de ce venin, et que cette floculation atteint sa vitesse et son intensité maxima dans les mélanges où le venin est neutralisé, a été interprétée dans le sens que la floculation serait produite par l'union de l'antitoxine et du venin. Cette interprétation est celle de M. Nicolle, E. Debains et E. Césari, G. Abt, H. Schmidt, etc. Ramon la considère comme étant vraie *a priori* et fonde sur elle la partie théorique de son œuvre. Cette interprétation de la spécificité du procès de la floculation des mélanges toxine-antitoxine concorde pleinement avec la théorie régnante d'Ehrlich et de son école sur la nature de la neutralisation de la toxine par l'antitoxine.

Cependant, tout dernièrement, quelques expérimentateurs ont fait remarquer qu'il n'a pas encore été démontré que la floculation soit réellement produite par l'union de la toxine et de l'antitoxine. Par exemple, avec des toxines ou anti toxines autres que la toxine et l'antitoxine diphtériques, les Américains

J. Bronfenbrenner et P. Reichert, dans leurs travaux sur la flocculation des mélanges toxine-antitoxine botuliniques, et les savants viennois M. Eisler et N. Kovacs qui, ayant expérimenté sur la flocculation et la neutralisation de l'hémotoxine et de l'antitoxine du vibron Kadiköj, considèrent que la flocculation n'est pas produite par l'union de la toxine et de l'antitoxine.

Il est très difficile de trouver dans notre cas la solution juste du problème, à savoir : la flocculation des mélanges toxine-antitoxine tétanique dépend-elle ou non de l'union de la toxine et de l'antitoxine? On peut essayer de le résoudre en séparant les propriétés toxiques de la toxine ou les propriétés antitoxiques de l'antitoxine des propriétés flocculantes. Une telle séparation serait possible par absorption par diverses substances, car on peut s'attendre à ce que les propriétés toxiques et les propriétés flocculantes ne soient pas absorbées de la même manière. Mais l'absorption n'a donné aucun résultat positif quant à la toxine tétanique. Eisler et Kovacs l'ont réussi pour la toxine du vibron Kadiköj, en s'aidant du noir animal.

Une toxine tétanique perd également ses qualités toxiques dans une étuve à 38° C, même sans la présence de formaldéhyde. Ceci est démontré par les expériences suivantes : Le 22 novembre, on place dans une étuve à 38° C plusieurs tubes contenant de la toxine tétanique. On prélève de temps en temps un peu de cette toxine que l'on injecte sous la peau des animaux.

QUANTITÉS DE TOXINE	POIDS DE LA SOURIS	RÉSULTATS
<i>Première injection le 24 novembre.</i>		
0,1	14,0	} + 25 novembre.
0,1	14,0	
<i>Deuxième injection le 15 décembre.</i>		
0,1	14,0	} + 18 décembre.
0,1	14,0	
0,5	14,5	+ 17 décembre.
<i>Troisième injection le 29 décembre.</i>		
0,5	14,0	+ 31 décembre.
1,0	14,0	+ 30 décembre.

Nous voyons que la toxine dont la dose létale était primitivement de 0 c. c. 00005 après cinq semaines de séjour à l'étuve, est devenue beaucoup moins toxique.

En partant de ce fait, j'ai étudié l'influence de la chaleur sur la toxine tétanique, en vue de voir : 1° si les qualités toxiques

Toxine tétanique de l'Institut Pasteur chauffée dans un bain-marie à 45° C, et injectée sous la peau de souris blanches.

DURÉE du chauffage à 45° C en heures	QUANTITÉ de toxine injectée en cent. cubes	POIDS de la souris	DATE de l'injection	RÉSULTATS
60	0,1	14,0	26 novembre.	+ 28 novembre.
60	0,1	14,5	26 novembre.	+ 28 novembre.
60	0,5	14,0	26 novembre.	+ 28 novembre.
60	0,5	15,0	26 novembre.	+ 28 novembre.
128	0,1	14,5	4 décembre.	+ 6 décembre.
128	0,1	14,0	4 décembre.	+ 6 décembre.
128	0,5	14,0	4 décembre.	+ 6 décembre.
128	0,5	15,0	4 décembre.	+ 6 décembre.
220	0,5	14,5	15 décembre.	+ 18 décembre.
220	0,5	13,5	15 décembre.	+ 18 décembre.
220	1,0	14,0	15 décembre.	+ 17 décembre.
220	1,0	14,5	15 décembre.	+ 17 décembre au matin.
432	0,5	14,0	29 décembre.	Survit.
432	0,5	13,5	29 décembre.	Survit.
432	1,0	13,5	29 décembre.	Survit.
432	1,0	15,0	29 décembre.	Survit.

Expériences de floculation
avec la toxine chauffée quatre cent trente-deux heures à 45° C.

	SÉRUM étalon en cent. cubes	TEMPS de floculation en heures
Toxine chauffée 432 heures à 45° C : 4 cent. cubes	0,20	7,30
Toxine non chauffée : 4 cent. cubes (contrôle) . .	0,20	1,00

et les qualités floculantes offrent la même labilité; 2° dans le cas où la chaleur détruirait dans la toxine les qualités toxiques seules, en laissant intactes les qualités floculantes, ou inversement, de trouver la température la plus favorable à cette disso-

ciation. J'ai essayé les températures les plus diverses, depuis le point d'ébullition de la toxine jusqu'à 37° C. A l'ébullition, la toxine perd bien toutes ses qualités toxiques, mais elle perd également ses propriétés floculantes les plus caractéristiques. Comme le montrent les tableaux précédents, les résultats obtenus sont le plus démonstratifs.

Le floculat de la toxine chauffée a le même aspect que celui de la toxine non chauffée. A la longue, le contenu des tubes redevient limpide et les flocons sont précipités.

On doit retenir comme un fait très important la lenteur relative avec laquelle se fait la floculation de la toxine chauffée, par rapport au tube de contrôle; la toxine chauffée pendant quatre cent trente-deux heures, et, par suite, devenue complètement atoxique, flocule en sept heures trente minutes, tandis que le tube de contrôle flocule en une heure.

L'action de la chaleur, même modérée, est très grande non seulement sur les qualités toxiques de la toxine, mais aussi sur ses qualités floculantes.

Au début du chauffage les qualités toxiques de la toxine tétanique vont rapidement en décroissant; puis après qu'elle a atteint une certaine limite, cette atténuation se ralentit. A s'en rapporter aux conclusions que l'on pourrait tirer des expériences d'orientation faites jusqu'à présent, la concentration pH serait appelée à jouer un grand rôle dans le cas donné.

Les effets pathogènes de la toxine tétanique chauffée diffèrent de ceux de la toxine non chauffée. En injectant, par exemple, à un animal de la toxine chauffée cent vingt-huit heures, les premiers signes de maladie n'apparaissent qu'après quarante-huit heures. Jusque-là l'animal semble parfaitement bien portant. Il meurt subitement, en quelques heures, sans présenter aucun symptôme de tétanos.

En résumé, la toxine tétanique subit de telles transformations sous l'influence de la chaleur qu'après un certain temps elle devient complètement atoxique. Cette transformation est d'autant plus rapide que la température est plus élevée; mais les qualités floculantes sont également altérées. Parmi les agents qui activent cette transformation, citons le formol. A 45° une toxine tétanique perd totalement ses qualités toxiques, mais ses qualités floculantes, quoique affaiblies, subsistent. Comme Ramon l'a

montré pour la toxine diphtérique, la floculation des mélanges toxine-antitoxine tétaniques ne dépend donc pas de la toxine *sui generis*.

AGENTS ACTIVANT LA FLOCLATION.

Il est difficile en général d'*accélérer* la vitesse de floculation. V. Georgi signale bien l'action activante des extraits lipoidiques, mais la question n'a pas été étudiée à fond.

Dans la recherche d'un agent activant la floculation, j'ai essayé les substances les plus diverses : la lécihine, la cholestérine, l'alcool, etc., que j'ajoutais aux mélanges toxine-antitoxine tétaniques. Mais je n'obtins pas de résultats positifs. Finalement, au lieu de toxines filtrées, j'ai employé des cultures tétaniques non filtrées et des microbes tétaniques lavés, en suspension dans de l'eau physiologique. Voici quelques-unes de ces expériences.

On prend le dépôt gris qu'un bouillon tétanique vieux de sept jours a laissé au fond du tube. Ce dépôt est lavé par trois fois consécutives à l'eau physiologique, par centrifugation. La masse bactérienne ainsi obtenue est additionnée de 10 cent. cubes d'eau physiologique. On observe alors au microscope une grande quantité de bacilles et de spores tétaniques. Cette suspension microbienne est ajoutée à des mélanges toxine-antitoxine tétaniques résistants à la floculation.

TOXINE	QUANTITÉ de toxine dans le tube en cent. cubes	PROVENANCE du sérum ajouté	QUANTITÉ de suspension microbienne ajoutée en cent. cubes	FLOCLATION à 45° C
Riga 3 . .	4	Institut de Sérothérapie de Copenhague . . .	0,02	En 25 minutes.
Riga 3 . .	4	Vienne I	0,02	En 18 minutes.
Riga 3 . .	4	Vienne II	0,02	En 20 minutes.
Riga 3 . .	4	Vienne III	0,02	En 20 minutes.
Höchst . .	4	Höchst	0,02	En 20 minutes.
<i>Contrôle.</i>				
Riga 3 . .	4	Institut de Sérothérapie de Copenhague . . .		Pas de floculation.
Riga 3 . .	4	Vienne. Höchst . . .		Pas de floculation.

Au lieu de suspension microbienne, on peut utiliser avec le même succès une culture tétanique non filtrée.

Expériences avec la toxine tétanique non filtrée.

TOXINE vieille de	RÉSULTATS de l'examen microscopique	QUANTITÉ de toxine dans le tube en cent. cubes	QUANTITÉ de sérum ajoutée en cent. cubes	FLOCCULATION en minutes
4 jours . .	Champ du microscope couvert d'innombrables bacilles	4	Vienne I 0,1	25
8 jours . .	Beaucoup de bacilles.	4	0,1	35
10 jours . .	10 à 20 bacilles dans le champ du microscope (beaucoup moins que dans le cas précédent) . .	4	0,1	50

Expériences parallèles avec la toxine tétanique filtrée
et la toxine non filtrée.

TOXINE vieille de	QUANTITÉ de toxine expérimentée en cent. cubes		QUANTITÉ de sérum ajoutée à la		TEMPS DE FLOCCULATION en minutes	
	toxine non filtrée	toxine filtrée	toxine non filtrée	toxine filtrée	toxine non filtrée	Toxine filtrée
4 jours . .	4	4	Vienne I, 0 c. c. 1.		25	Pas de floculation.
4 jours . .	4	4	Vienne I, 0 c. c. 1.		40	Pas de floculation.

[Une toxine filtrée diffère donc beaucoup d'une toxine non filtrée quant à la floculation. On voit d'après le tableau ci-contre que la vitesse de floculation dépend de l'âge de la toxine : une toxine âgée flocule plus lentement qu'une toxine fraîche.

Quel est le rôle des corps microbiens et de leurs spores dans l'activation de la floculation? Pour le déterminer, j'ai procédé à des expériences comparatives avec une toxine non filtrée, mais centrifugée :

TOXINE VIEILLE DE en quantité de	DURÉE de la centrifugation à 3.000 tours	RÉSULTATS de l'examen microscopique de la toxine	FLOCCULATION à 45° C
8 jours : 4 cent. cubes.	30 minutes.	1 à 2 bacilles par 2 à 3 champs du microscope	25 minutes.
8 jours : 4 cent. cubes.	Pas de centrifugation.	Beaucoup de bacilles dans chaque champ du microscope	
8 jours : 4 cent. cubes.	Toxine filtrée.	Stérile	12 minutes. Pas de floculation.

La centrifugation précipite les corps microbiens et leurs spores et allonge le temps de floculation.

En examinant le flocculat centrifugé d'une culture tétanique non filtrée vis-à-vis du sérum homologue, nous voyons que le flocculat d'une culture vieille de quatre jours est composé presque exclusivement d'amas de microbes avec, par endroits, un peu de substance de coloration homogène. Nous avons donc affaire dans ce cas à une agglutination à peu près pure et simple de bacilles tétaniques. Dans le flocculat d'une culture vieille de huit jours, les amas microbiens et la substance homogène sont déjà en proportion à peu près égale, de sorte qu'il est difficile de savoir au juste ce qui a dominé de l'agglutination (amas microbiens) ou de la précipitation (substance homogène). Le flocculat d'une culture plus vieille encore (dix jours) est composé presque uniquement de substance homogène. Ici, c'est la précipitation qui domine. Il en est de même pour le flocculat des mélanges toxine-antitoxine tétaniques additionnés de microbes. L'agglutination et la précipitation marchent donc de pair dans les mélanges toxine-antitoxine tétaniques et dépendent l'une de l'autre : lorsque ce sont les microbes entiers qui dominent dans une culture fraîche, le sérum spécifique provoque leur floculation (agglutination) ; les microbes d'une culture âgée sont autolysés, la culture est riche en corps dissous, et le sérum spécifique provoque leur précipitation. Ceci confirme les travaux de Ch. Nicolle, sur l'agglutination du bacille d'Eberth et du *B. coli* et sur la provenance de la substance agglutinée. « Ces amas dans les mélanges culture filtrée-sérum sont absolument semblables à des amas microbiens ; il serait impossible, si l'on n'était prévenu, de les en distinguer. On jurerait qu'il s'agit de microbes accolés ; et lorsqu'on a bien comparé ensemble un amas de substance agglutinée, on a l'impression que, dans le premier cas, les microbes sont fondus entre eux par la coalescence de leur substance. »

Nos expériences confirment également celles de M. Weinberg et ses collaborateurs, sur la synergie des anticorps. Dans leurs études sur le sérum antiperfringens, les auteurs concluent que, dans les mélanges de cultures microbiennes et de sérums homologues, il se produit une agglutination et une précipitation à la fois (une précipito-agglutination) et

que chacune de ces réactions est activée par l'autre (synergie).

Déjà avant nous, Glenny, Kalic, S. Schmidt et d'autres ont remarqué dans la floculation des mélanges de toxine et d'antitoxine, plusieurs optima de floculation. Les uns appellent ces floculations « non spécifiques » (Glenny), d'autres « fausses floculations » (Kalic). En effet, il arrive souvent d'observer que le mélange du tube initial redevient limpide après la floculation. Mais il y a aussi des sérums qui troublent la même toxine après la floculation. La floculation peut produire parfois des flocons macroscopiques, mais il arrive aussi que le processus s'arrête près de la floculation.

« La précipitine et l'antigène peuvent s'unir sans donner lieu à un précipité visible, car le produit de la réaction n'est pas nécessairement insoluble dans toutes les conditions d'expérience; dans ce cas la mise en évidence de la réaction exige une méthode plus sensible, telle que la fixation du complément » (H. G. Wells).

Cette dernière méthode est utilisée de nos jours pour prouver l'existence de stades non apparents d'une floculation. H. R. Dean avait remarqué que la fixation de l'alexine s'effectue dans un mélange toxine-antitoxine, de même que dans une réaction de précipitation, E. Renaux démontra que dans la floculation d'un tel mélange il se produit une fixation complète d'alexine. On a constaté cette absorption après un temps de quinze minutes, tandis que le trouble du tube n'est devenu apparent qu'après quarante-cinq minutes et la que floculation n'a commencé qu'après deux heures. Ceci confirme que les premières phases de floculation ne sont pas apparentes, bien qu'il y ait déjà une fixation d'alexine, E. Renaux l'explique d'une autre manière.

Quelques heures après la floculation d'un mélange toxine-antitoxine, quelques flocons flottent encore dans le liquide. On voit dans ce mélange que l'apparition des flocons est échelonnée, le contenu primitivement transparent du tube initial se troublant de plus en plus. Il n'est pas possible de déterminer quand la floculation cesse car les flocons ne sont pas toujours précipités au fond du tube. Des petits flocons continuent à flotter dans le liquide même après quelque temps de repos. En observant le liquide à la loupe, on y voit distinctement de petites particules. Elles disparaissent à la centrifugation. En remplaçant

le liquide redevenu transparent dans un bain-marie à 45° C, il se trouble de nouveau. Ce trouble est en général très fin et se présente sous la forme d'une suspension colloïdale. Cette suspension n'est plus précipitée au fond du tube. Elle nous rappelle la floculation « non spécifique » ou « fausse floculation » (Kalic, Glenny). Nos expériences remontrent que cette « floculation non spécifique » ou « fausse floculation » n'est qu'une simple phase du procès général de floculation.

Dans les mélanges toxine-antitoxine tétaniques, on observe donc un processus ininterrompu de floculation et non une floculation seule et unique. Si la floculation résultait d'une union de toxine et d'antitoxine, il serait impossible d'obtenir plusieurs floculations successives.

J'ai procédé à des expériences de floculation successive sur plusieurs sérums à floculation rapide. Dans les mélanges toxine-antitoxine, la floculation étant terminée, on sépare le dépôt du liquide transparent qui surnage. En soumettant ce liquide à la floculation, on a parfois l'impression qu'il ne lui manque qu'un certain facteur pour donner des floculations successives, et qui est disparu au cours de la floculation précédente. Le flocculat des mélanges toxine-antitoxine étant formé principalement par les substances provenant du sérum, il était à penser qu'il faudrait ajouter du sérum frais pour obtenir des floculations successives. Les expériences l'ont confirmé. En ajoutant du sérum homologue frais au liquide devenu transparent sous l'action de la centrifugation, nous avons obtenu de nouveau plusieurs floculations qui apparaissaient en général plus tard que la précédente. Toutes les expériences avec des mélanges de sérums et de bouillon ont donné des résultats négatifs. L'action mutuelle des sérums n'est donc pas la cause des floculations successives.

La toxine utilisée au cours de ces expériences était la même que dans les expériences précédentes.

La floculation ininterrompue des mélanges toxine-antitoxine tétaniques explique l'insuccès du titrage *in vitro* des antitoxines tétaniques par la méthode de floculation. La cause première en est à chercher dans la constitution antigène spécifique de la toxine tétanique, car cette toxine donne, vis-à-vis de son antitoxine, un flocculat contenant non seulement un complexe

toxine-antitoxine, mais encore d'autres fractions de sérum, par suite de quoi les limites de la floculation se trouvent considérablement élargies. Ces fractions diffèrent entre elles également par leur vitesse de floculation. Si la toxine s'unit constamment à une ou plusieurs de ces fractions bien définies, la floculation a une marche régulière, et les résultats *in vitro* seront en concordance avec les résultats *in vivo* (toxine et antitoxine diphtériques). Si au contraire la toxine s'unit à des fractions toujours différant entre elles par leur temps de floculation, les résultats *in vitro* seront en divergence avec les résultats *in vivo* (toxine et antitoxine tétaniques et la plupart des autres toxines et antitoxines). Les rap-

QUANTITÉ DE TOXINE	QUANTITÉ DE SÉRUM ajoutée à la première expérience	PREMIÈRE floculation	MANIÈRE dont le dépôt est séparé du liquide	QUANTITÉ de sérum ajoutée après la séparation au dépôt	DEUXIÈME floculation
<i>I. Le sérum 20, ayant subi une floculation en présence de 4 cent. cubes de toxine, séparé du dépôt et additionné du sérum 21 (567), placé au bain-marie à 45° C.</i>					
4 cent. cubes.	10 c. c. 28 sérum 20.	En 1 heure.	Liquide conservé au repos 12 heures.	0 c. c. 4 sérum 21 (567).	En 4 h. 20.
4 cent. cubes de bouillon Martin (contrôle).	"	—	—	"	—
<i>II. Le sérum étalon, ayant subi une floculation en présence de 4 cent. cubes de toxine, séparé du dépôt et additionné du sérum 20 (578), placé dans un bain-marie à 45° C.</i>					
4 cent. cubes	En présence de 0 c. c. 20 de sérum étalon.	En 1 heure.	Tube initial soumis à la centrifugation pendant 20 minutes.	0 c. c. 20 sérum 20 (578)	En 2 h. 30.
4 cent. cubes de bouillon Martin (contrôle).	"	—	—	"	—

ports que nous avons constatés au cours de nos expériences sur les mélanges toxine-antitoxine diphtériques ne s'appliquent pas aux mélanges toxine-antitoxine tétaniques et autres (perfringens, botulinisme, etc.), de sorte que la toxine et l'antitoxine diphtériques ne font pas loi, mais exception.

Nous envisagerons la floculation des mélanges toxine-antitoxine d'une autre manière. Les expériences concernant l'action de la chaleur sur la toxine tétanique nous ont montré que le floculat se produit même dans le cas où la toxine a été détruite. De même, la floculation répétée des mélanges toxine-antitoxine tétaniques nous montre que la toxine et l'antitoxine n'y jouent pas de rôle direct. De plus, l'action activante des microbes tétaniques lavés sur la floculation, ainsi que la floculation accélérée des mélanges toxine non filtrée-antitoxine nous indiquent que des relations existent entre le procès d'agglutination, le procès de précipitation et le procès général de floculation. Enfin, nous avons vu qu'il était impossible de déterminer d'une façon exacte le commencement et la fin de la réaction de floculation dans les mélanges toxine-antitoxine tétaniques, la réaction de floculation étant un procès ininterrompu passant par diverses phases. Nous devons donc conclure que la floculation et l'union de la toxine et de l'antitoxine tétaniques sont deux réactions différentes, bien que se produisant souvent d'une façon parallèle. En effet, si la floculation ne dépend pas de l'union de la toxine et de l'antitoxine, nous devons nous attendre à ce que le floculat contienne la toxine et l'antitoxine en quantités fort diverses. C'est justement ce que nous a indiqué S. Schmidt.

P. Hartley affirme la haute qualité antigène des floculats des mélanges toxine-antitoxine diphtériques. H. Schmidt et W. Scholz recommandent d'employer ces floculats à l'immunisation active contre la diphtérie. Avant d'appliquer cette méthode, on doit d'abord voir si l'on a effectivement affaire à une immunisation active, ou à une immunisation passive. Il peut arriver d'injecter sous la peau une substance très antitoxique, mais qui est lente à résorber. Mes expériences sur les floculats obtenus dans les mélanges toxine-antitoxine tétaniques montrent que ces floculats, eux aussi, sont inoffensifs et ne sont pas neutres, mais antitoxiques. Je vais indiquer

quelques-unes de ces séries d'expériences. Un mélange de 2 cent. cubes de toxine tétanique et de 0 c. c. 015 de sérum Vienne I (dilué à 1/1), après la floculation initiale, a été soumis trente minutes à une centrifugation très forte puis on a séparé le liquide transparent surnageant. Le dépôt a été lavé trois fois consécutives à l'eau physiologique, après centrifugation. Ceci fait, on l'a mélangé à des quantités différentes de toxine tétanique. On a mélangé également les mêmes quantités de toxine avec le sérum utilisé dans la réaction de floculation. Les mélanges ainsi obtenus ont été placés pendant une heure dans une étuve à 37° C, puis injectés sous la peau à des souris blanches.

Dose létale de toxine tétanique, 0 c. c. 00005.

Antitoxine tétanique « Vienne I ».

NUMÉRO D'ORDRE	FLOCCULAT	QUANTITÉ de sérum ajoutée à 2 cent. cubes de toxine	QUANTITÉ en doses létales de toxine ajoutée au flocculat ou au sérum	POIDS de la souris	RÉSULTATS
I	Flocculat du mélange de 2 cent. cubes de toxine avec 0 c. c. 015 (1 : 1) de sérum « Vienne I ».	—	100	15,0	Survit.
II	—	Sérum « Vienne I » 0 c. c. 015 (1 : 1).	100	15,0	Survit.
III	Flocculat du mélange de 2 cent. cubes de toxine avec 0 c. c. 015 (1 : 1) de sérum « Vienne I ».	—	1.000	15,5	Survit.
IV	—	Sérum « Vienne I » 0 c. c. 015 (1 : 1).	1.000	15,0	Survit.
V	Flocculat du mélange de 2 cent. cubes de toxine avec 0 c. c. 015 (1 : 1) de sérum « Vienne I ».	—	10.000	15,0	+ en 24 h.
VI	—	Sérum « Vienne I » 0 c. c. 015 (1 : 1).	10.000	15,0	Survit.

On pourrait conclure de ces expériences que la toxine est mécaniquement unie au flocculat, si ce dernier n'est pas convenablement lavé. Aussi, pour être sûr du contraire, ai-je additionné le flocculat, lavé par trois fois consécutives, de 15 cent.

cubes d'eau physiologique, en déposant le mélange quarante-huit heures à la température de la chambre. Quarante-huit heures après, les tubes furent soumis à une centrifugation, le dépôt prélevé additionné de toxine, et les mélanges ainsi obtenus injectés sous la peau des souris blanches :

FLOCCULAT	QUANTITÉ de sérum ajoutée à 2 cent. cubes de toxine	QUANTITÉ en doses léthales de toxine ajoutée au flocculat ou au sérum	POIDS de la souris	RÉSULTATS
Flocculat du mélange de 2 cent. cubes de toxine tétanique avec 0 c. c. 015 de sérum « Vienne I » (1 : 4) ayant sé- journé 48 heures dans 15 cent. cubes d'eau physiolo- gique.	—	1.000	15,0	Survit.
—	Sérum « Vienne I » 0 c. c. 015 (1 : 4).	1.000	15,0	Survit.

En quarante-huit heures, le flocculat n'a donc rien perdu de ses qualités antitoxiques, ce qui indique qu'elles appartiennent au flocculat et non au sérum emporté dans la flocculation.

Le flocculat des mélanges toxine-antitoxine tétaniques peut donc être non seulement neutre, ainsi que beaucoup l'ont cru jusqu'à présent, mais également antitoxique. Une petite quantité de flocculat peut même contenir une grande quantité d'antitoxine. Ceci confirme une fois de plus que la flocculation de l'union de la toxine ne dépend pas de l'antitoxine. La flocculation des mélanges toxine-antitoxine est un procès primaire et la disparition des qualités toxiques et antitoxiques n'est qu'un accident secondaire. Cette hypothèse nous fournit un nouveau point de départ dans l'étude des problèmes de la flocculation et de l'union de la toxine et de l'antitoxine, ainsi que la possibilité d'expliquer des faits incompris jusqu'à ce jour.

Le flocculat peut absorber ou s'unir chimiquement aux substances toxiques et antitoxiques. Mais il est plus probable que les qualités toxiques et antitoxiques s'évanouissent non par

suite de la disparition d'une certaine substance, mais par la coagulation de colloïdes hautement dispersés, aboutissant, dans les cas favorables, à la floculation : la floculation et l'union de la toxine et de l'antitoxine sont alors parallèles. La divergence entre les méthodes de titrage *in vivo* et *in vitro* tient à ce que les floculats des mélanges toxine-antitoxine peuvent retenir des quantités variables de toxine et d'antitoxine. Cela nous explique aussi la diversité des qualités antigènes et antitoxiques, le phénomène de Danysz, les zones de floculation multiples et les floculations répétées. Nous sommes ainsi conduits à admettre l'unité des divers anticorps floculants (agglutinants, précipitants, floculants dans le sens étroit du mot), en conformité avec l'hypothèse de M. Nicolle, de Bordet, Landsteiner, Renaux et de nombreux autres expérimentateurs.

IV. — Conclusions.

Le titrage de l'antitoxine tétanique par la méthode de floculation a donné 21 cas, sur 45 sérums examinés, soit 47 p. 100 de concordance entre les méthodes *in vitro* et *in vivo*.

En recherchant les causes de la divergence, on a trouvé que :

1° Il est possible de séparer les qualités toxiques d'une toxine tétanique de ses qualités floculantes, en la soumettant à l'action de la chaleur;

2° La floculation des mélanges toxine-antitoxine tétaniques est un processus ininterrompu continuant pendant un temps assez long;

3° Le floculat d'un mélange toxine-antitoxine tétaniques n'est pas toujours neutre;

4° La floculation des mélanges toxine-antitoxine tétaniques est activée par les microbes tétaniques;

5° Il n'est pas démontré que la floculation des mélanges toxine-antitoxine tétaniques soit produite uniquement par l'union de la toxine et de l'antitoxine, car on peut obtenir une floculation lorsque le poison tétanique est détruit; cette floculation peut être activée par les microbes tétaniques; enfin les floculats ne sont toujours pas neutres.

6° La contradiction disparaît lorsqu'on considère la flocula

tion comme étant un processus primaire et que la disparition des qualités toxiques et antitoxiques n'est qu'un accident secondaire.

7° Notre hypothèse permet de réunir en un seul les anticorps dotés de noms divers. Au lieu de « précipitation », « agglutination » et « floculation » dans le sens étroit du mot, il nous paraît préférable d'employer le terme « floculation ».

Que mes maîtres à l'Institut Pasteur de Paris, MM. le directeur E. Roux, les sous-directeurs A. Calmette et L. Martin et leurs collaborateurs G. Abt, M^{lle} B. Erber, G. Loiseau, Schœn, trouvent ici l'expression de ma vive gratitude pour le très aimable accueil qu'ils m'ont réservé.

Que l'International Education Board de New-York accepte l'assurance de ma reconnaissance pour m'avoir fourni l'aide matérielle qui m'a permis de mener à bien mes études à l'Institut Pasteur de Paris.

BIBLIOGRAPHIE

1. ABT (G.) et ERBER (B.), Sur le titrage des antitoxines et des toxines tétaniques par la floculation. *Ces Annales*, 40, 1926, p. 659.
2. BRONFENBRENNER (J.) et REICHERT (P.), The nature of the toxin-antitoxin flocculation phenomenon. *Journ. of Exp. Méd.* 44, 1926, p. 553.
3. BRONFENBRENNER (J.) et REICHERT (P.), The flocculation of botulinus toxin-antitoxin mixtures. *Proc. Soc. Exp. Biol. and Med.* 22, 1925, p. 391.
4. CALMETTE (A.) et MASSOL (L.), Les précipitines du sérum antivenimeux vis-à-vis du venin de cobra. *Ces Annales*, 23, 1909, p. 155.
5. DANYSZ (J.), Contribution à l'étude des propriétés et de la nature des mélanges des toxines avec leurs antitoxines. *Ces Annales*, 16, 1902, p. 331.
6. DEAN (H. R.) et WEBB (R. A.), The influence of optimal proportions of antigen and antibody in the serum precipitation reaction. *Journ. of Pathol. and Bact.*, 29, 1926, p. 473.
7. DUMAS (J.), RAMON (G.) et SAÏD BILAL, Anatoxine dysentérique. *Ces Annales*, 40, 1926, p. 134.
8. EISLER (M.) et KOVACS (E.), Untersuchungen über das Verhältnis des Präzipitogens und Hämotoxins des *Vibrio Kadiköj* und das Unvermögen dieses Toxins sein spezifisches Antitoxin zu flocken. *Zentr. f. Bakt., Orig., Abt. I*, 99, 1926, p. 518.
9. FLÖSSNER (O.) et KUTSCHER (Fr.), Zur Kenntnis der Ramonschen Flockungsreaktion. *Munch. med. Wochr.*, n° 18, 1924, p. 76.
10. GEORGI (W.), Über eine ausflockende Wirkung des Diphtherie-Serums. *Med. Klin.* n° 16, 1920, p. 1061.
11. GLENNY (A. F.) et OKELL (C. C.), The titration of diphtheria toxin and antitoxin by flocculations methods. *Journ. of Pathol. and Bact.*, 27, 1924, p. 187.

12. GLENNY (A. T.) et WALLACE (U.), The titration of diphtheria toxine by the flocculation method. *Journ. of Pathol. and Bact.*, **28**, 1925, p. 317.
13. GLENNY (A. T.) et POPE (C. G.), Diphtheria toxoid-antitoxin floccules. *Journ. of Pathol. and Bact.*, **30**, 1927, p. 587.
14. HARTLEY (P.), The antigenic properties of precipitates produced by the interaction of the diphtheria toxin and antitoxin. *Brit. Journ of exp. Pathol.* **6**, 1925, p. 112.
15. HOEN (E.), TSCHERTKOW (L.) et ZIPP (W.), Studien über das Wesen des « Lp » des Di-toxins. *Zeits. f. Immun. Forsch. und exp. Therapie*, **48**, 1926, p. 191.
16. HOEN (E.), TSCHERTKOW (L.) et ZIPP (W.), Über die Einheit der prazipitino-genen und antitoxinbindenden substanz im Diphtherie-toxin. *Zeits. f. Hyg. u. Infkr.*, **108**, 1927, p. 61.
17. IWANOFF (K.), Beiträge zur Wertbestimmung von Diphtherieserum durch das Prazipitations verfahren. *Zeits. f. Hyg.*, **107**, 1926, p. 227.
18. JACOBY (M.), Über Ricin-Immunität. *Beitr. z. chem. Physiol. u. Pathol.*, **1**, 1902, p. 51.
19. KALIC (D.), Flocculation non spécifique du sérum antitétanique. *C. R. Soc. Biol.*, **98**, 1928, p. 557.
20. KRAUS (R.), Über spezifische Reaktionen in Keimfreien Filtraten aus Cholera, Typhus und Pest-bouillon-Kulturen. *Wien Klin. Woch.*, **10**, n° 32, 1897, p. 736.
21. KRAUS (R.), LÖWENSTEIN, (E.), et BAECHE, (S.), Die Flockungsreaktion im Diphtherie-toxin. *Wien. Klin. Woch.*, n° 23, 1924, p. 561.
22. MICHAELIS (L.) et DAVIDSOHN, (H.), Die abhängigkeit spezifischer. Fällungsreaktionen von der Wasser-Stoffionenkonzentration. *Biochem. Zeits.*, **47**, 1912, p. 59.
23. MOONEY (P. J.) et BEECHER WELD (C.), Diphteria toxin-antitoxin flocculation (Ramon test). *Journ. of Pathol. a Bact.*, **28**, 1925, p. 655.
24. NICOLLE (Ch.), Recherches sur la substance agglutinée. *Ces Annales*, **12**, 1898, p. 161.
25. NICOLLE (M.), DEBAINS (E.) et CESARI (E.), Précipitation mutuelle des toxines et de leurs antitoxines. *C. R. Acad. d. Sc.*, **169**, 1919, p. 1433.
26. NICOLLE (M.), CESARI (E.) et JOUAN (C.) *Toxines et antitoxines*, Paris, Masson, 1919.
27. NICOLLE (M.) et CESARI (E.), Colloïdes. Catalyse. Antigènes. Anticorps. *Ces Annales*, **36**, 1922, p. 463.
28. POVITZKY (O.), Specificity of Ramon flocculation test in scarlet fever. *Arch. of Path. a Labor. Med.*, **4**, 1927, p. 484.
29. RAMON (G.), Flocculation dans un mélange neutre de toxine-antitoxine diphtérique. *C. R. Soc. Biol.*, **86**, 1922, p. 661.
30. RAMON (G.), Sur une technique de titrage *in vitro* du sérum antidiphtérique. *C. R. Soc. Biol.*, **86**, 1922, p. 711.
31. RAMON (G.), A propos du titrage *in vitro* du sérum antidiphtérique par la flocculation. *C. R. Soc. Biol.*, **86**, 1922, p. 813.
32. RAMON (G.), Pouvoir flocculant et pouvoir toxique de la toxine diphtérique. *C. R. Soc. Biol.*, **89**, 1923, p. 2.
33. RAMON (G.), Sur le pouvoir et sur les propriétés immunisantes d'une toxine diphtérique rendue anatoxique (anatoxine). *C. R. Acad. Sc.*, **177**, 1923, p. 1338.
34. RAMON (G.), Sur la toxine et sur l'anatoxine diphtériques. Pouvoir flocculant et propriétés immunisantes. *Ces Annales*, **38**, 1924, p. 1.

35. RAMON (G.), et DESCOMBEY (P.), Sur l'appréciation de la valeur antigène de la toxine et de l'antitoxine tétaniques par la méthode de floculation. *C. R. Soc. Biol.*, 95, 1926, p. 434.
36. RAMON (G.) et GRASSET (E.), La réaction de floculation et le dosage du pouvoir antitoxique du sérum antidiphthérique purifié. *C. R. Soc. Biol.*, 95, 1926, p. 436.
37. RAMON (G.), A propos de la vitesse de floculation du sérum antidiphthérique vis-à-vis de la toxine spécifique. *La Presse Médicale*, n° 59, 1927.
38. RAMON (G.), Sur la spécificité et la signification du phénomène de floculation dans les mélanges toxi-antitoxine diphthériques. *La Presse Médicale*, n° 87, 1927.
39. RAMON (G.), MARTIN (R.), et LAFAILLE (A.), Contribution à l'étude de l'immunité vis-à-vis du streptocoque dit scarlatineux. *C. R. Acad. Sc.* 186, 1928, p. 1452.
40. RENAUX (E.), Sur la floculation de la toxine diphthérique par le sérum antidiphthérique, *C. R. Soc. Biol.*, 90, 1924, p. 964.
41. RENAUX (E.), Considération sur la préparation et le titrage du sérum antidiphthérique. *Arch. intern. de méd. exp.*, 2, 1925, p. 135.
42. RENAUX (E.), Contribution à l'étude de la réaction de fixation dans les mélanges de toxine et d'antitoxine. *Ces Annales*, 42, 1928, p. 356.
43. SCHMIDT (H.), Die mathematische Formulierung der Zwischen Diphtherie-toxin und Antitoxin sich abspielenden Flockungsreaktion. *Zentr. f. Bakt., Orig., Abt. I*, 94, 1925, p. 38.
44. SCHMIDT (H.), Zur Kenntnis der Natur der Diphtherie-Toxin-Antitoxin-Flockung. *Zeits. f. Immun. Forsch. u. Exp. Therapie*, 48, 1926, p. 217.
45. SCHMIDT (H.), Die Schutzimpfung gegen Diphtherie mit einem neuen Impfstoff T. A. F. *Zentr. f. Bakt., Orig., Abt. I*, 97, 1926, p. 63.
46. SCHMIDT (H.), und SCHOLZ (W.). Studien Zur Kenntnis des Eigennhaften von Diphtherie-Toxin-Antitoxin Gemischem. I, II, III, IV, V. *Arch. f. Hyg.*, 95-96, 1925.
47. SCHMIDT (S.) Sur le titrage du sérum antidiphthérique, *C. R. Soc. Biol.*, 88, 1923, p. 105.
48. SCHMIDT (S.), Remarques sur la technique de titrage du sérum anti diphthérique d'après la méthode de Ramon. *C. R. Soc. Biol.*, 90, 1924, p. 1178.
49. SCHMIDT (S.), Vitesse de floculation et vitesse de neutralisation du sérum antitétanique vis-à-vis de la toxine tétanique. *C. R. Acad. Sc.*, 184, 1927, p. 1138.
50. SCHMIDT (S.), Le phénomène de floculation des toxines diphthérique et tétanique vis-à-vis de leurs antitoxines. *Ces Annales*, 42, 1928, p. 63.
51. SCHOLZ (W.), Weitere Erfahrungen bei der Auswertung des Diphtherie-heilserums mittels der modifizierten Ramonschen Flockungsreaktion. *Deut. Med. Woch.*, n° 50, 1923, p. 1512.
52. SCHOLZ (W.), Über die Brauchbarkeit der Flockungsreaktion für die Auswertung antitoxischer Sera (insbesondere des Diphtherie-Antitoxins). *Zentr. f. Bakt., Orig., Abt. I*, 91, 1924, p. 72.
53. SORDELLI (A), et SERPA (R.), Titrage du sérum antidiphthérique par la méthode de Ramon. *C. R. Soc. Biol.*, 91, 1924, p. 1043.
54. VIDAL (F.) et SICARD (A.), Etude sur le sérodiagnostic et sur la réaction agglutinante chez les typhiques. *Ces Annales*, 11, 1897, p. 353.

55. WEINBERG (M.), PRÉVÔT et GOR (A.), Flocculation des sérums agglutinants par les filtrats de cultures microbiennes. *C. R. Soc. Biol.*, **90**, 1924, p. 329.
56. WEINBERG (M.) et BAROTTE (J.), Synergie des anticorps. *Ces Annales*, **42** 1928, p. 619.
57. WELLS (G. N.). *Les Aspects chimiques de l'immunité*, Trad. par L. Boëz. Gaston Doin, 1928.
58. WELSILE (D. A.) et CHAPMAN (H. G.), On the weight of Precipitin Interactions with small weights of Homologous Protein. *Proc. of Roy. Soc.*, Ser. B, **80**., 1908, p. 161.

LE STREPTOCOCCUS LONGISSIMUS
SON POUVOIR PATHOGÈNE POUR L'HOMME

par G. S. JOANNIDES.

(*Institut Pasteur Hellénique.*)

Le *Streptococcus longissimus* est signalé pour la première fois par Friedrich en 1890 [1]. Cet auteur trouve, dans l'expectoration de plusieurs malades atteints de grippe et dans l'exsudat pulmonaire d'un malade ayant succombé au huitième jour de la maladie (grippe et pneumonie lobaire), un streptocoque différent du *Streptococcus erysipelatis* par les caractères suivants : a) formation de chaînes très longues, composées d'éléments plutôt ovoïdes ; b) développement sur gélatine plus abondant ; c) culture sur bouillon à dépôt floconneux et à liquide clair ; d) pouvoir pathogène pour les animaux minime et disparaissant très vite par la culture en série.

C. Spengler [2] reprend, en 1901, l'étude de ce streptocoque qu'il trouve dans les crachats de plusieurs tuberculeux. Cet auteur signale la formation de chaînes très longues, le développement sur gélose glycinée et dans l'eau de condensation des tubes. Il lui donne, le premier, le nom de *Streptococcus longissimus*.

Thalmann [3] a publié, en 1910, un long mémoire sur les streptococcies et sur la classification des streptocoques. Cet auteur a isolé (d'amygdales saines, du pharynx, des crachats et de cas de gingivite chronique) 63 souches d'un streptocoque formant des chaînes très longues (surtout en milieux liquides) et pathogène pour la souris. Les souris succombaient à l'infection, mais ne présentaient pas de streptocoques dans le sang. Thalmann étudie le premier le pouvoir hémolytique de ce streptocoque sur gélose au sang (peu ou pas d'hémolyse ou colonies à halo verdâtre), il identifie ce streptocoque avec celui étudié par Friedrich, mais il ne veut pas l'identifier avec le

streptocoque de Spengler. Toutefois, Thalmann garde pour son streptocoque le terme de *Streptococcus longissimus* donné par Spengler.

Ces notions sur le *Streptococcus longissimus* servent de base à Lingelsheim [4], en 1912, pour la description de cette espèce. Depuis, en parcourant la littérature, on voit que le *Streptococcus longissimus* n'est pas toujours signalé ou qu'il est, quelquefois, soit confondu avec le *Streptococcus conglomeratus*, soit insuffisamment caractérisé. Ainsi Heim, dans la septième édition de son *Lehrbuch der Bakteriologie* (1922), donne dans une planche (Tafel III, n° 14) la photographie d'un *Streptococcus conglomeratus*, qu'il considère, quelques années plus tard [5], comme un *Streptococcus longissimus*. Dible [6], dans son mémoire sur l'entérocoque et sur les streptocoques des fèces, donne la photographie d'un streptocoque isolé des fèces (Planche I, fig. 5), qui pourrait être un *Streptococcus longissimus*, mais qui est tout simplement signalé comme « provenant des fèces et fermentant le raffinose ».

Donges [7], en 1923, cultivant le sang ou des placards épidermiques ou l'exsudat des amygdales de rougeoleux, a isolé vingt fois des streptocoques du type *longissimus* et *conglomeratus*. Ces streptocoques (excepté une souche provenant des amygdales) étaient plus ou moins hémolytiques (gélose au sang). Donges étudie le développement de ces streptocoques sur différents milieux nutritifs et tend à croire que ces germes sont les facteurs étiologiques de la rougeole.

Le même auteur [8], en 1925, rapporte que ces streptocoques, cultivés en série sur des milieux liquides et solides, ont perdu leur disposition en chaînes très longues et leur pouvoir hémolytique. Dans cinq cas, les streptocoques ne se retrouvaient plus dans le sang des malades dix jours après l'apparition de l'exanthème (évolution normale de la rougeole, sans complications). Dans quatre autres cas, les streptocoques se retrouvaient encore dans le sang dix à seize jours après l'apparition de l'exanthème (enfants débilités, convalescence lente, compliquée de poussées de fièvre et d'otite). Quatre autres cas (enfants débilités) ont été mortels (pneumonie). Ces streptocoques, qui n'étaient pas pathogènes pour les cobayes et les souris, représenteraient, d'après Donges, non pas une espèce spéciale, mais

un état spécial du streptocoque et seraient le facteur étiologique de la rougeole. Un streptocoque identique a été isolé par Donges du sang d'un malade atteint de rubéole.

En 1926, Wirth [9], publie un excellent mémoire dans lequel, en étudiant les différentes espèces de streptocoques, il donne une description complète du *Streptococcus longissimus*. Wirth a isolé ce streptocoque huit fois d'exsudats d'angines, deux fois de crachats et une fois du liquide céphalo-rachidien (méningite) en association avec des méningocoques. Les principaux caractères de l'espèce sont, d'après cet auteur, les suivants :

a) En bouillon-ascite, formation de gros flocons qui, à l'examen microscopique, se trouvent composés de chaînes très longues;

b) En tubes de gélose glucosée, colonies de volume inégal mais en général petites, transparentes, d'aspect vitreux;

c) En gélose de Drigalski, colonies fines et bleues;

d) Le petit-lait tournesolé et le lait au vert malachite ne sont pas altérés;

e) Le lait au rouge neutre est, après un ou deux jours, coagulé;

f) Le lait tournesolé, additionné ou non de dextrose ou de lactose, vire, après deux ou quatre jours, au rouge et peut, plus tard, être coagulé;

g) Le lait tournesolé, additionné d'arabinose, n'est pas coagulé;

h) Le lait tournesolé, additionné de glycérine, vire, après quatre à dix jours, au rouge et peut, plus tard, être coagulé;

i) Dans le bouillon au sang, pas d'hémolyse;

j) Sur gélose au sang, colonies verdâtres. Quelques souches possèdent un faible pouvoir hémolytique (étroite zone d'hémolyse tout autour de la colonie);

k) Le *Streptococcus longissimus* est tué par le chauffage à 60° pendant un quart d'heure; il n'est pas lysé par le taurocholate de soude à 1 p. 100 et à 3 p. 100 et n'est pas pathogène pour la souris blanche (une anse de culture sous la peau de la base de la queue).

Ces caractères du *Streptococcus longissimus* sont confirmés par Heim et Schlirf [5] et par Lehmann et Neumann [10]. Tous

ces auteurs s'accordent pour donner comme caractère typique du *Streptococcus longissimus* la formation (surtout en bouillon ascite) de chaînes très longues, se continuant à travers plusieurs champs microscopiques « comme des fils télégraphiques ».

Quant au pouvoir pathogène pour l'homme, la plupart des auteurs ne croient pas que le *Streptococcus longissimus* puisse provoquer une infection générale. Friedrich se réserve et ne le considère pas comme l'agent étiologique de la grippe. Spengler croit que la présence du *Streptococcus longissimus* dans les crachats des tuberculeux est un signe de mauvais pronostic. Thalmann ne peut pas se prononcer sur le pouvoir pathogène du *Streptococcus longissimus* chez l'homme. Wirth considère ce germe comme un saprophyte. Heim et Schlirf croient que le *Streptococcus longissimus* pourrait provoquer des inflammations locales, mais pas une septicémie à métastases. Enfin, dans la littérature que nous avons pu consulter, nous n'avons trouvé aucun cas de streptococcémie à *Streptococcus longissimus*, mais, dernièrement, nous avons observé le cas suivant :

M^{lle} K..., vingt-huit ans. A l'âge de seize ans, rhumatisme articulaire aigu avec endocardite, dont il reste une insuffisance mitrale bien compensée. En septembre 1928, attaque de dengue grave qui a duré une dizaine de jours. Aussitôt après, la première molaire supérieure gauche, cariée, présente une ostéopériostite grave et la malade demande l'extraction de la dent. Pendant les efforts d'extraction, la dent s'est cassée et le dentiste a essayé, à plusieurs reprises mais en vain, d'arracher la racine de la dent. La malade continue à souffrir mais, quelques jours après, le dentiste a pu arracher très facilement la racine de la dent qui s'est détachée presque d'elle-même en emportant la partie interne de l'alvéole nécrosée. La douleur disparut et l'inflammation commençait à rétrocéder quand, deux jours après l'extraction de la racine, la malade a eu un grand accès de fièvre (40°) d'une durée de dix heures environ. Des accès semblables suivirent tous les deux, trois ou quatre jours et la malade fut admise à l'hôpital de Sainte-Hélène (D^r Assimis). Elle présentait un bon état général et une légère hyperleucocytose (16.000 globules blancs par millimètre cube de sang). La recherche des hématozoaires et l'agglutino-réaction

pour la fièvre typhoïde et la fièvre méditerranéenne furent négatives. Les accès fébriles se poursuivant, nous avons pratiqué, le 31 décembre 1928 une hémoculture en bouillon glucosé, qui nous donna du *Streptococcus longissimus* en culture pure. M. Coccoris, professeur de Stomatologie à la Faculté d'Athènes, examina la cicatrice de l'alvéole et ne trouva pas de fistule. L'exsudat pris au fond de l'alvéole cicatrisée nous donna, à l'examen direct et en culture, du *Streptococcus longissimus*, des streptocoques à chaînettes plus courtes et d'autres microorganismes. Les accès de fièvre se poursuivant, nous pratiquons, le 13 novembre 1928, une nouvelle hémoculture, qui nous donne encore du *Streptococcus longissimus* en culture pure. L'état général de la malade commence à s'altérer. Vers la fin novembre, on s'est aperçu que le souffle mitral devenait rude. A la mi-décembre, la malade présente brusquement une hémiplégie du côté droit, tombe dans le coma et meurt deux jours après (1). L'autopsie n'a pas pu être faite.

Le *Streptococcus longissimus* que nous avons isolé présentait tous les caractères de l'espèce. Dans le bouillon, et surtout dans le bouillon-ascite, il formait des chaînes très longues (dépôt floconneux) qui, composées d'éléments plutôt ovoïdes, se continuaient à travers plusieurs champs microscopiques. Il ne produisait d'hémolyse ni dans le bouillon au sang ni sur la gélose au sang. Sur ce dernier milieu, les colonies n'étaient pas franchement verdâtres. Le taurocholate de soude à 1 p. 100 et à 3 p. 100 ne lysait pas ce germe. Ce streptocoque n'était pas pathogène pour la souris blanche (une anse sous la peau de la base de la queue), pour la souris domestique et pour le cobaye (0 c. c. 3 de culture en bouillon sous la peau), ni pour le lapin (0 c. c. 7 de culture en bouillon sous la peau). Enfin, ce *Streptococcus longissimus*, cultivé en série sur gélose molle amidonnée, n'a perdu jusqu'à présent aucun de ses caractères.

L'histoire de cette malade rappelle bien la streptococcémie, et l'isolement du *Streptococcus longissimus* à deux reprises par l'hémoculture nous fait croire que ce germe existait vraiment dans le sang. Quant à son rôle pathogène, la littérature nous laisse d'autant plus sceptique que c'est la première fois que

(1) L'observation clinique sera publiée *in extenso* par le Dr Assimis.

nous isolons du sang le *Streptococcus longissimus*. Aussi, nous serions disposé à le considérer comme un saprophyte, s'il n'y avait dans notre cas un facteur favorisant l'action pathogène d'un microorganisme peu pathogène d'habitude. Ce facteur est la fièvre dengue.

En effet, au cours de la pandémie de dengue qui a sévi sur la Grèce en 1928, les infections secondaires (furoncles, abcès, phlegmons, parotidites, adénites, septicémies, etc.) ont été très fréquentes [11, 12, 13]. Dans les cas graves de fièvre dengue, nous avons trouvé des altérations dégénératives des grands mononucléaires et des polynucléaires neutrophiles du sang [14], altérations qui rappellent exactement celles que Ch. Nicolle [15], en collaboration avec Jaeggy, a décrites sur des singes infectés de typhus exanthématique. Kyriazidès [13] a trouvé, dans la fièvre dengue, l'indice opsonique du sérum vis-à-vis les germes pyogènes nettement abaissé. On peut donc se demander si la fièvre dengue n'a pas été, chez notre malade, la cause favorisante d'une infection secondaire par le *Streptococcus longissimus*, microorganisme peu pathogène d'habitude. Enfin, pour ce qui concerne l'importance des espèces de streptocoque considérées comme peu pathogènes, nous devons rappeler le cas publié dernièrement par M. Creyx [16]. Dans ce cas de septicémie mortelle, l'hémoculture a donné un streptocoque à chaînes très longues, enchevêtrées et composées d'éléments un peu allongés, polymorphes et irréguliers (*Streptococcus conglomeratus*?)

BIBLIOGRAPHIE

- [1] FRIEDRICH, Untersuchungen über Influenza. *Arbeiten aus dem kaiserl. Gesundheitsamte*. 6, 1890, p. 254-265.
- [2] C. SPENGLER, Zur Diagnose und Prognose der Misch- und Begleitinfektion bei Lungentuberkulose. *Centralbl. Bakteriol. I. Origin.* 30, 1901, p. 765-772.
- [3] THALMANN, Streptokokkenkrankungen in der Armee, Einteilung der Streptokokken und ihre Bekämpfung. *Centralbl. f. Bakteriol. Origin.* I. 56, 1910, p. 248-277.
- [4] W. v. LINGELSHHEIM, Streptokokken. *Handbuch der pathogenen Mikroorganismen*, Kolle-Wassermann, 2^e Aufl., 1912, 4, p. 466.
- [5] L. HEIM u. K. SCHLIEF, Was ist es mit der Einheit der Streptokokken? *Centralbl. f. Bakteriol. I. Origin.* 100, 1926, p. 24-46.

- [6] J. Henry DIBLE, The enterococcus and the faecal streptococci; their properties and relations. *The Journal of Pathology and Bacteriology*, vol. XXIV, 1921, p. 3-35 (avec une planche).
- [7] DONGES, Ueber Streptokokken befunde und Streptokokken züchtung aus dem Blute von Masernkranken. *Centralbl. f. Bakteriol. I. Origin.* **91**, 1923, p. 45-50.
- [8] DONGES, Zur Aetiologie der Masern. *Centralbl. f. Bakteriol. I. Origin.* **94**, 1925, p. 115-122.
- [9] E. WIRTH, Zur Kenntniss der Streptokokken. *Centralbl. f. Bakteriol. I. Origin.* **99**, 1926, p. 266-292.
- [10] K. LEHMANN u. R. NEUMANN. *Bakteriologie, insbesondere bakteriologische Diagnostik.* **11**, p. 209 u. 222. Verlag J. Lehmann. München, 1927.
- [11] E. KONDOLEON u. G. JOANNIDES, Die chirurgischen Komplikationen der Dengue. *Soc. Médicale d'Athènes. Séance du 1^{er} décembre 1928, et Münch. Mediz. Woch.*, n° 5, 1 Februar 1929, p. 197-198.
- [12] T. PAPADOPOULO, M. JOEL et A. HADJIGEORGES, Sur les complications chirurgicales de la Dengue. *Presse Médicale.* **37**, n° 4, p. 49-51.
- [13] K. KYRIAZIDES. *Société Médicale d'Athènes* (Discussion). Séance du 1^{er} décembre 1928.
- [14] G. JOANNIDES, L'examen morphologique du sang dans la fièvre dengue. *Soc. médico-chirurgicale d'Athènes. Séance du 16 novembre 1928, et Athènes Médical.* janvier 1929, p. 2-4.
- [15] Ch. NICOLLE, Recherches expérimentales sur le typhus exanthématique (une planche). *Annales de l'Institut Pasteur.* **24**, 1910, p. 267-270.
- [16] M. GREYX, Pemphigus aigu, manifestation terminale d'une septicémie à streptocoque démontrée par l'hémoculture. *Bull. et Mém. de la Soc. Méd. des Hôp. de Paris* n° 2, 1929, p. 106-108.

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DE L'ANTIVIRUS

IMMUNISATION LOCALE DU POULAIN

VIS-A-VIS DU STREPTOCOQUE

par L. KANDIBA et E. SADOVSKY.

Nous avons étudié l'immunisation locale du poulain vis-à-vis du streptocoque de la gourme sur 20 animaux, âgés de six à neuf mois, dont 15 convalescents de l'infection gourmeuse et 5 ne l'ayant jamais contractée (1).

Nous avons utilisé pour nos recherches une souche de streptocoque (n° 500) de la gourme, virulente pour le cobaye, le lapin et le chat. En injection sous-cutanée, une dose de 0 c. c. 5 d'une culture de vingt-quatre heures en bouillon-sérum de cette souche streptococcique provoquait chez l'animal convalescent la formation d'un abcès limité, mais des doses plus faibles (0 c. c. 05 ou 0 c. c. 2) étaient mieux tolérées. Au contraire, introduites par voie dermique, ces faibles doses ont toujours amené des réactions inflammatoires très nettes. Chez l'animal non touché antérieurement par l'infection gourmeuse, des doses de 0 c. c. 06 à 0 c. c. 3 de culture ont toujours provoqué des réactions locales accentuées, allant jusqu'à la formation d'abcès nécrotiques.

Notre travail comprend deux parties : dans la première, nous avons étudié le pouvoir immunisant local de la toxine, du toxoïde et de l'antivirus streptococcique; la seconde est consacrée à l'examen des résultats obtenus par l'inoculation des préparations précédentes, mélangées avec la culture streptococcique.

(1) Rappelons que Alavi MOGHADAM (*Thèse Vétér.*, Toulouse, 1928) a utilisé avec succès l'antivirus streptococcique gourmeux, préparé au laboratoire du Professeur Besredka, pour immuniser, par la voie cutanée, des jeunes chevaux contre la gourme.

I. — Immunisation locale par la toxine, le toxoïde et l'antivirus streptococciques.

TECHNIQUE. — Après épilation, nous avons injecté dans le derme de parties de la peau séparées les unes des autres, habituellement au niveau du cou, de l'épaule et du garrot, d'une surface de 60 à 100 cent. carrés, de faibles doses (0 c. c. 2 à 0 c. c. 4 à chaque point d'injection; 15 à 20 injections pour chaque surface), de toxine, de toxoïde, d'antivirus et de bouillon. Trois ou quatre jours plus tard, au minimum, ces surfaces ont été soumises à des injections d'épreuve pratiquées par voie dermique ou sous-cutanée.

A. — RÉALISATION DE L'IMMUNISATION LOCALE.

Chez 4 poulains convalescents de la gourme, nous avons préparé des surfaces cutanées avec chacun des produits suivants : toxine streptococcique (il s'agissait d'une toxine plus ou moins vieille, provenant d'une culture en bouillon de Park additionné de 1 p. 100 de sang de cheval); toxoïde streptococcique (la même toxine chauffée une demi-heure ou une heure à 60°); antivirus polyvalent des streptocoques gourmeux, obtenu en bouillon au miel à 2 p. 100. Une quatrième surface cutanée nous a servi de témoin, Trois jours plus tard, les quatre surfaces d'expérience ont été infectées par voie dermique avec une dose de 0 c. c. 03 de culture streptococcique de vingt-quatre heures en bouillon-sérum.

Au niveau des surfaces témoins, les réactions locales ont été constantes, sous forme d'abcès de la grosseur d'un petit pois à celle d'une noix, allant dans un cas jusqu'à la formation d'une petite plaque nécrotique. Au niveau des surfaces préparées par l'antivirus et le toxoïde, les réactions locales ont toujours été légères et transitoires; il en est de même pour les surfaces préparées par la toxine, sauf dans un cas où il s'est développé un abcès de la dimension d'une noisette.

B. — IMMUNISATION LOCALE ET INDEX DE CONTAGION.

Dans l'expérience précédente, effectuée sur des animaux convalescents de l'infection gourmeuse, avec une dose d'épreuve assez faible, l'index de contagion était relativement peu élevé. Il est possible de réduire encore cet index et de le rendre presque nul. C'est ce que nous avons fait dans l'expérience suivante :

Deux poulains, convalescents de la gourme, reçoivent, par voie parentérale, un mois avant l'expérience, 0 c. c. 05 et 0 c. c. 1 de culture vivante. On prépare des surfaces cutanées comme précédemment; l'injection d'épreuve est faite trois jours plus tard avec une dose de 0 c. c. 08. Après avoir présenté des réactions inflammatoires minimales, les surfaces immunisés reviennent à l'état normal en quatre et dix jours. Les phénomènes réactionnels sont plus marqués au niveau des surfaces témoins, sans aller jusqu'à la formation d'un abcès.

En somme, en présence d'un index de contagion minime, il suffit d'irriter préventivement les éléments tissulaires, même par le bouillon-sérum, pour diminuer la gravité de l'infection provoquée.

INDEX DE CONTAGION ÉLEVÉ. — Voyons maintenant comment est réalisée l'immunisation locale en présence d'un index de contagion élevé.

Cette éventualité peut être obtenue de deux façons différentes, soit en employant de fortes doses à l'injection d'épreuve, soit en expérimentant sur des animaux sans antécédent gourmeux, donc plus sensibles à l'infection.

L'emploi de doses élevées à l'injection d'épreuve nous a donné les résultats suivants :

3 poulains convalescents de la gourme sont préparés de la même façon que ceux des expériences précédentes, mais éprouvés (voie dermique) avec une dose de 0 c. c. 2. Il se développe, au niveau des quatre surfaces examinées, des abcès moins volumineux pour les surfaces préparées avec le toxoïde et l'antivirus que pour celle préparée avec la toxine et pour la surface témoin (du volume d'une noisette au lieu du volume d'une noix).

Chez deux autres poulains convalescents, préparés de façon identique, mais infectés par une injection d'épreuve sous-

cutanée d'une dose de 0 c. c. 5, les réactions locales ont été beaucoup moins accentuées au niveau des surfaces témoins. L'immunisation obtenue par la toxine a été inférieure à celle due à l'antivirus et au toxoïde.

L'expérimentation sur *des animaux n'ayant jamais eu la gourme* nous a également donné d'intéressants résultats.

Chez un poulain n'ayant jamais eu la gourme, l'injection d'épreuve, sous-cutanée, d'une dose de 0 c. c. 5, effectuée dix jours après la préparation des surfaces cutanées, provoque au niveau des surfaces préparées par la toxine ou par le toxoïde des abcès de grosseur variable (d'une noisette à un œuf), mais sans nécrose, alors qu'une surface témoin est le siège d'un volumineux abcès nécrotique.

On prépare sur un second animal 5 surfaces cutanées au moyen de toxine, de toxoïde et d'antivirus streptococciques, de bouillon-sérum et de bouillon au miel. L'injection d'épreuve, quatre jours après, à la dose de 0 c. c. 5, provoque un volumineux abcès au niveau de la surface témoin, des réactions beaucoup moins accusées au niveau des surfaces préparées par la toxine, le bouillon au miel et le bouillon-sérum. Il n'existe aucune réaction au niveau des surfaces préparées par le toxoïde et l'antivirus.

Enfin, chez deux autres poulains préparés localement par diverses substances, l'immunisation locale n'a été réalisée que par l'antivirus et le toxoïde; les surfaces préparées par la toxine, le bouillon-sérum et le bouillon au sucre ont présenté des réactions inflammatoires aussi marquées que les surfaces témoins, à l'injection d'épreuve. Remarquons que, si l'action immunisante de la toxine a été nulle, l'infection n'a pas été aggravée par cette toxine qui, n'étant pas définitivement transformée en toxoïde, a perdu en partie sa toxicité pour les tissus.

II. — Immunisation locale par le mélange de toxine, de toxoïde, ou d'antivirus streptococciques et d'une culture de streptocoques.

Contrairement aux faits mentionnés dans la littérature scientifique, en ce qui concerne les animaux de laboratoire, nous avons observé que l'action immunisante du toxoïde ou de l'anti-

virus est beaucoup plus marquée quand on les inocule au poulain sous forme de mélange avec une culture de streptocoques.

Nos expériences sur ce point sont les suivantes :

Sur deux poulains convalescents de la gourme, on pratique, en des endroits différents, des injections sous-cutanées des mélanges suivants : 0 c. c. 5 de culture streptococcique + 0 c. c. 5 de toxine; 0 c. c. 5 de culture streptococcique + 0 c. c. 5 de toxoïde; 0 c. c. 5 de culture + 0 c. c. 5 d'antivirus polyvalent du streptocoque de la gourme; 0 c. c. 5 de culture + 0 c. c. 5 de bouillon sucré; 0 c. c. 5 de culture + 0 c. c. 5 de bouillon-sérum. Voici les résultats de cette expérience.

Surface de contrôle = fortes réactions locales (abcès).

Surfaces préparées par le mélange toxine + culture = réactions très marquées (abcès nécrotiques).

Surfaces préparées par le mélange toxoïde + culture = inflammation qui s'est résorbée en quelques jours.

Surfaces préparées par le mélange antivirus + culture = inflammation qui s'est résorbée en quelques jours.

Surfaces préparées par le mélange bouillon-sérum + culture = réactions locales aussi accusées qu'au niveau des surfaces de contrôle.

Surfaces préparées par le mélange bouillon-sucré + culture = réactions locales aussi accusées qu'au niveau des surfaces de contrôle.

Ainsi, la toxine streptococcique a eu une action aggravante sur l'infection, le bouillon sucré et le bouillon-sérum n'ont pu augmenter localement la résistance des tissus; l'immunisation locale n'a été réalisée que par l'antivirus ou par le toxoïde.

Ce résultat particulièrement intéressant a été obtenu lors d'un index de contagion peu élevé. Répétée sur un autre poulain, la même expérience n'a pas été aussi nette; l'index de contagion était, chez cet animal, si élevé, que le pouvoir immunisant du toxoïde et de l'antivirus n'ont pas pu se manifester. Mais, l'action agressive de la toxine a été évidente (volumineux abcès nécrotique).

Dans cette catégorie d'expériences, l'importance de l'index de contagion est considérable. Elle ressort avec netteté des observations suivantes :

Un poulain convalescent de la gourme est traité par les mêmes mélanges que les autres animaux, mais les proportions du mélange ne sont plus les mêmes : on cherche à abaisser l'index de contagion en diminuant à 0 c. c. 25 la dose de cul-

ture employée et en élevant à 1 c. c. 75 la dose de substance mélangée. Mais l'index de contagion étant trop élevé, le but poursuivi n'a pas été atteint : seule, la surface cutanée préparée par le mélange de culture et de toxoïde a été douée d'un faible degré d'immunité.

Enfin, dans une dernière expérience, chez un animal ayant eu la gourme, les surfaces cutanées, traitées par les mélanges d'antivirus ou de toxoïde, avec la culture streptococcique, n'ont présenté aucune réaction locale, alors que les surfaces traitées par le mélange toxine + culture ont été le siège de phénomènes inflammatoires qui n'ont disparu que longtemps après l'injection.

*
* *

Dans nos expériences, nous avons obtenu, chez le poulain, l'immunité locale de surfaces cutanées, uniquement par l'immunisation locale.

1° L'importance de l'*index de contagion* dans cette immunisation ressort nettement de nos expériences. C'est seulement en présence d'un index de contagion peu élevé (dose infectante insuffisante) que le pouvoir immunisant local des protéines non spécifiques peut être révélé ; encore faut-il observer que le degré d'immunité qu'elles confèrent est bien moins prononcé que celui obtenu par le toxoïde spécifique, ou antivirus.

Les résultats négatifs observés par certains auteurs sont dus, selon nous, à l'emploi de méthodes d'expérimentation défectueuses, qui n'ont pas tenu compte de ces facteurs.

2° Notre attention fut également attirée sur la double action de la toxine streptococcique qui, suivant le cas, immunise ou aggrave l'infection. Son action aggravante peut s'expliquer par la non-destruction de la partie toxique de la toxine fraîche, et son action immunisante par la transformation de la toxine en toxoïde, par le vieillissement de cette toxine ou par son chauffage à 60°. Cependant, les toxines streptococciques vieilles provoquent une immunité locale moins marquée que celle réalisée par la toxine chauffée, soit par le toxoïde ou l'antivirus.

Fait intéressant : la toxine inactive peut contribuer au développement de l'immunité locale, et non à celui de l'immunité générale, comme on le voit dans une de nos expériences. Ce

fait montre l'affinité toute spéciale de la toxine streptococcique pour les éléments tissulaires de la peau. Le délai de développement de l'immunité au niveau des parties de la peau préparées, qui est de trois à quatre jours, correspond à notre opinion sur l'immunité locale, processus de désensibilisation des éléments tissulaires, et processus de fermeture de leur appareil récepteur.

L'intense affinité de l'antivirus, ou toxoïde streptococcique, vis-à-vis des éléments sensibles, nous a permis d'obtenir localement une action immunisante et même thérapeutique, par l'introduction simultanée de l'antivirus et de la culture. Ce phénomène, déjà décrit par Besredka, précise l'affinité plus marquée du toxoïde streptococcique pour les éléments tissulaires que celle de la toxine correspondante. Ainsi s'explique l'action thérapeutique des antivirus, bien connue en clinique, et que l'un de nous a observée (Sadovsky) dans le traitement de l'anasarque des chevaux, à la suite d'injections intraveineuses d'antivirus streptococcique.

Dans certaines conditions, l'antigène modifié, sous forme de toxoïde, peut donner un résultat curatif presque aussi rapide que l'anticorps correspondant. Il est possible que, pour certaines infections toxiques, cette méthode de traitement spécifique soit supérieure au traitement par l'antitoxine correspondante. De toute façon, les applications thérapeutiques de l'antivirus, ou du toxoïde streptococcique, doivent être étendues, en raison des faits que nous venons d'exposer et de l'impuissance de la thérapeutique dans de nombreuses affections. L'immunisation locale préventive, par ces produits, doit trouver un domaine particulièrement important en pratique chirurgicale, surtout en gynécologie et en obstétrique.

D'après nos recherches, il est possible d'affirmer que le principe actif de l'antivirus streptococcique est le *toxoïde streptococcique*, en dehors des protéines du bouillon et de leurs dérivés, qui ne jouent qu'un faible rôle dans l'immunisation.

Aussi, nous basant sur ces considérations théoriques, avons-nous modifié la préparation des antivirus streptococcique et staphylococcique. Nous employons une culture de quarante-huit heures au lieu d'une culture de trois semaines, que nous transformons en toxoïde, non par le séjour à l'étuve, mais par

le chauffage à 60° pendant une heure. Ces antiviruses, préparés en trois ou quatre jours, après addition d'acide borique (2 p. 100) et filtration, ont donné de bons résultats en clinique humaine et vétérinaire.

Signalons, pour terminer, qu'à la suite de l'immunisation locale par le toxoïde et l'antivirus, 4 poulains neufs n'ont que faiblement réagi à l'inoculation de 3 cent. cubes de culture de streptocoque gourmeux, et ont pu rester longtemps en contact avec des animaux atteints de gourme sans contracter cette affection. On est donc en droit d'espérer la réalisation pratique de la *vaccination anti-gourmeuse* chez le poulain.

Conclusions.

1° Vis-à-vis du streptocoque, l'immunité locale, comme l'immunité générale, est limitée.

2° Pour mettre en évidence, expérimentalement, l'immunité locale, il faut opérer dans des conditions quantitativement définies;

3° Nous avons obtenu une immunité locale très nette vis-à-vis du streptocoque;

4° L'immunisation locale, chez le chat et le poulain, permet d'introduire impunément dans l'organisme de fortes doses de microbes vivants.

5° Le toxoïde de la toxine streptococcique est le principe actif de l'antivirus streptococcique de Besredka et provoque l'immunisation locale spécifique.

6° Les protéines non spécifiques peuvent augmenter la résistance locale des tissus vis-à-vis du streptocoque, mais à un degré beaucoup moindre que le toxoïde spécifique.

Institut Sanitaire bactériologique d'Ukraine
(Directeur Prof. Zlatogoroff),
et Laboratoire bactériologique vétérinaire militaire [Kharkoff].

LES ANIMAUX DE LABORATOIRE
PORTEURS
DE STREPTOCOQUES ET DE BACILLES TUBERCULEUX
MATÉRIAUX POUR L'ÉTUDE DES « MICROBES DE SORTIE »

par le Prof. S. J. ZLATOGOROFF, B. E. PALANTE et M. L. KOCHKINE.

(Institut sanitaire bactériologique de Kharkoff.)

Ces dernières années, s'est considérablement accru l'intérêt pour l'étude des micro-organismes peuplant normalement le corps humain et celui des animaux, étant donné qu'une série de ces micro-organismes, dans des conditions déterminées, peuvent être considérés en pathologie, non seulement comme facteurs des infections secondaires, mais aussi des infections initiales. Ces micro-organismes, que M. Nicolle a appelés « microbes de sortie », sont la cause des infections endogènes et présentent une grande variété de formes. Certaines espèces, particulièrement répandues dans l'organisme animal, apparaissent quelques heures ou quelques jours après la naissance pour ne disparaître qu'après la mort. Ce sont les streptocoques, les staphylocoques, les pneumocoques, *B. coli* (Sanarelli, pendant le choléra), les protozoaires, les spirochètes, quelques virus filtrants (par exemple du type herpès), les bacilles tuberculeux (Calmette) et les anaérobies, comme le *B. perfringens*. Il a été prouvé que des microbes pouvaient agir dans l'organisme humain sous des influences diverses. Dans l'organisme animal, leur activité a été également observée, dans une série de maladies (M. Nicolle). En outre, il est intéressant de constater que ces « microbes de sortie » peuvent agir dans l'organisme animal comme stimulants et simuler les véritables facteurs de la maladie (Carré). Ceci est très important pour les expériences sur les animaux de laboratoire (lapins, cobayes, souris blanches,

chats, singes) chez lesquels certains microbes, comme le streptocoque, n'ont rien que de banal.

Le rôle possible du streptocoque comme « microbe de sortie » a été conçu dans notre laboratoire (Zlatogoroff, Derkatch, Nasledyctreva) pendant les recherches sur la scarlatine effectuées sur les singes, en 1924. Une partie de ces singes, après l'inoculation de filtrat de muqueuse des malades atteints de scarlatine, accusèrent une infection due au streptocoque. Dans nos recherches (Nascedycheva, Palante) sur les doses mortelles du *B. proteus*, par inoculation aux lapins *per os*, sous-cutanée ou intraveineuse, 15 animaux sur 37 périrent. A l'autopsie, on trouva dans leur sang : deux fois le *B. proteus*, deux fois le *B. coli*, et sept fois le streptocoque. Nous rapprochâmes ces faits de nos constatations antérieures concernant des lapins morts spontanément de septicémie, de pleurésie ou de pneumonie à streptocoques. Nos observations prouvent irréfutablement que chez ces animaux le streptocoque apparaît comme « microbe de sortie ». Ceci fut encore confirmé par nos recherches sur la scarlatine expérimentale, lorsque le virus de la scarlatine injecté aux lapins (filtrat de la muqueuse des scarlatineux), bien qu'il ne contenait pas de streptocoques, déterminait cependant chez quelques lapins une infection streptococcique. Les expériences de Rosen et Kritch sur la scarlatine expérimentale, en inoculant la même substance, se trouvent en parfait accord avec nos recherches sur la présence du streptocoque dans l'organisme du lapin. Le même phénomène fut postérieurement remarqué par Burnet.

Après toutes nos expériences sur les lapins prouvant que ces derniers étaient porteurs de streptocoques, parut le travail de Ramsine sur la filtration des streptocoques. L'auteur, en inoculant des filtrats de culture de streptocoque à des souris blanches, obtenait chez celles-ci le streptocoque, d'où il conclut que les souris avaient reçu avec le filtrat les dérivés du streptocoque. Palante et Koudriavtzeva, vérifiant les travaux de Ramsine, ne purent confirmer toutes ses déductions ; cependant, ils observèrent la présence du streptocoque chez des souris saines soumises à l'action de divers produits (lait, b. Friedländer).

Etant donné que ces expériences ne furent pas nombreuses, nous décidâmes de les vérifier sur une plus vaste échelle, uti-

lisant pour cela, en plus des souris blanches, des cobayes, si souvent employés dans les laboratoires. Les cobayes furent également choisis parce que, depuis 1883, plusieurs auteurs (Malassez et Vignal, Eberth, Chantemesse, Boxmeyer, Horn, Hollmann, El. Parsons et Hyde) ont décrit chez ces derniers des infections spontanées dues au streptocoque.

Les cobayes nous intéressaient aussi comme moyens d'études de la tuberculose, particulièrement dans les expériences avec le B. C. G. Il était important d'établir, en plus de leur réaction au streptocoque leur réaction vis-à-vis du bacille tuberculeux. Dans ce but, nous utilisâmes 124 cobayes et 35 souris blanches cobayes qui furent éprouvés au moyen de méthodes diverses, établies par l'un de nous (Zlatogoroff) en 1924, pour la fièvre récurrente, puis soumis à l'examen bactériologique.

Comme moyens d'activation, on a employé le lait stérilisé, le vaccin de la peste, les cultures tuées de bacilles de Friedländer, la toxine du streptocoque et l'adrénaline. De plus, les animaux étaient soumis au régime avitaminé, ce qui provoqua dans nos expériences, de même que dans celles de Setti, des transformations des capacités virulentes du microbe saprophyte.

Les cobayes, pesant de 200 à 350 grammes, nous étaient envoyés de notre succursale de campagne et, pendant toute la durée de l'expérience, ils étaient gardés dans un local réservé aux animaux sains.

Les recherches étaient pratiquées de la façon suivante : tout d'abord, on recherchait dans le sang du cœur des cobayes sains la présence des streptocoques ; par un examen ultérieur cutané et intracutané, on remarquait la présence, dans ces parties, du streptocoque. Le sang obtenu étaitensemencé dans une grande quantité de bouillon glucosé et placé à l'étuve pendant un, cinq jours, à la température de 37° C. Sur 90 cobayes sains (les autres ne furent pas expérimentés pour des raisons techniques), 4 ont donné du streptocoque à la culture. Deux de ces cobayes reçurent des aliments avitaminés, les deux autres furent utilisés pour la suite des expériences. Sur 119 cobayes soumis à l'épreuve, 28 cobayes reçurent, sous la peau, 10 cent. cubes de vaccin de la peste, 16 reçurent sous la peau, 1 c. c. 5 de vaccin b. Friedländer, 16, 2, 3 cent. cubes de toxine de streptocoque, 18, 1 cent. cube d'adrénaline (1 : 50.000), 6 reçurent simulta-

nément 1 cent. cube de vaccin de la peste et de l'adrénaline et 6, 1 c. c. 5 de vaccin bacille Friedländer et d'adrénaline.

13 cobayes furent laissés comme témoins, et 16 autres mis à la diète subvitaminosée (avoine, foin, eau, le tout stérilisé à 120° quinze minutes et additionné d'un petit morceau de betterave fraîche, de 5 à 10 grammes). Nous avons pris la température de tous ces cobayes durant les trois premiers jours. Le sang du cœur, pris au maximum de la courbe de la température, étaitensemencé pour rechercher le streptocoque; quelques cobayes, atteints de fièvre, furent sacrifiés, les autres furent gardés pour la suite des expériences et reçurent une nouvelle injection sous-cutanée d'adrénaline (1 : 50 000). Nous procédâmes à l'analyse du sang quarante-cinq minutes après l'injection d'adrénaline.

Résumons les résultats obtenus : sur 28 cobayes sensibilisés par le vaccin de la peste, on a obtenu trois fois et cinq fois le streptocoque du troisième au onzième jour, un mois après l'injection renouvelée d'adrénaline, 16 cobayes sensibilisés au vaccin b. Friedländer accusèrent 2 streptocoques, et nous obtinmes trois fois le streptocoque chez 16 cobayes sensibilisés par la toxine streptococcique. Deux cultures furent obtenues après la seconde inoculation d'adrénaline; 4 streptocoques furent trouvés chez 12 cobayes sensibilisés simultanément par le vaccin et l'adrénaline. Enfin, parmi les 18 cobayes ayant reçu, sous la peau, 1 cent. cube d'adrénaline, 7 à l'analyse du sang, quarante-cinq minutes après l'injection, accusèrent le streptocoque (voir tableau I), 13 cobayes témoins et 16 cobayes soumis à la diète subavitaminosée reçurent, de quatre à sept mois après, sous la peau, 1 cent. cube d'adrénaline. Ils furent sacrifiés quarante-cinq minutes après; à l'analyse du sang et des organes, nous découvrîmes le streptocoque dans le sang d'un témoin (voir tableau I).

Nous obtinmes ainsi 25 streptocoques chez 119 cobayes (21 p. 100) sensibilisés par différents procédés et 4 streptocoques chez 90 cobayes sains (4,4 p. 100). Tous ces streptocoques furent trouvés par l'ensemencement du sang. Chez les cobayes sacrifiés nous avons examiné la rate, le foie, les reins, la bile, sans y trouver une seule fois le streptocoque. Nous n'obtînmes qu'un diplocoque (reins) Gram-négatif, des bacilles et des cocci (foie).

Il est à noter que, chez 3 cobayes, nous réussîmes à obtenir le

streptocoque en renouvelant 2 ou 3 fois l'expérience. Ainsi, les cobayes 773 et 776 qui, encore sains, donnèrent du streptocoque sous l'action du vaccin de la peste (773) et de la toxine streptococcique (776). Le cobaye 753, sous l'action du vaccin de la peste, accusa au moment de la maxima la présence du streptocoque, 41 jours après il fut de nouveau sensibilisé par l'adré-

TABLEAU I.

NOMBRE d'animaux expérimentés	MODES DE SENSIBILISATION	NOMBRE de streptocoques obtenus		
		Après la première inoculation	Après la deuxième inoculation	Total des streptocoques obtenus
Cobayes 90 . . .	Sains.			4
Cobayes 28 . . .	Sensibilisés au vaccin de la peste	3	5	8
Cobayes 16 . . .	Sensibilisés au vaccin b. Fried- länder.	2		2
Cobayes 16 . . .	Sensibilisés à la toxine du strep- tocoque.	4	2	3
Cobayes 18 . . .	Sensibilisés à l'adrénaline.	7		7
Cobayes 6 . . .	Sensibilisés au vaccin de la peste + adrénaline.	3		3
Cobayes 6 . . .	Sensibilisés au vaccin Friedländer + adrénaline.	4		4
Cobayes 16 . . .	Avitaminosés.			
Cobayes 13 . . .	Témoins.		1	1
Souris 35 . . .	Sains.			2
Souris 35 . . .	Sensibilisées par le lait. » vaccin de la peste. » adrénaline.	2	4 3	6

naline et accusa de nouveau le streptocoque. Lorsque, un mois après, ce cobaye fut resensibilisé par l'adrénaline, puis sacrifié, nous avons pu extraire de son sang le streptocoque.

Nous avons également soumis à l'expérience, par la méthode précédente, 35 souris blanches. Le sang de ces souris fut analysé 3 fois après l'injection, dans l'espace de deux à sept jours. Le sang était prélevé dans la veine de la queue, puis était ensemencé dans du bouillon glucosé qu'on laissait à l'étuve deux à cinq jours. Après l'examen de 35 souris saines, nous découvrîmes le streptocoque chez deux de ces animaux. Après l'injection, nous l'obtinmes chez 6. Parmi ces souris, 2 avaient été

sensibilisées par le lait, 4 par le vaccin de la peste et 3 par l'adrénaline. Tous les streptocoques ainsi obtenus étaient en chaînettes de longueur variée, de 7 à 14 cocci, occupant parfois presque tout le champ de microscope. Gram positif. Comme

TABLEAU II.

STREPTOCOQUES numéros	HÉMOLYSE	ACTION SUR LE LAIT	ACTION SUR LES SUCRES				
			Glucose	Saccharose	Lactose	Maltose	Mannite
Cobayes :							
543	XX	+	+	+	+	+	O
773	H	+	+	+	+	+	+
776	Viridans.	+	+	+	+	+	+
779	O	+	—	—	—	—	—
563	O	+	+	+	+	+	+
583	X	+	+	+	+	+	+
753	O	+	+	+	+	+	+
773 ²	X	+	+	+	+	+	+
820	—	+	—	—	—	—	—
835	—	+	+	+	+	+	O
547	XX	+	+	O	+	+	O
776 ²	Viridans.	+	+	+	+	+	+
538	O	+	+	+	+	+	+
776 ³	—	+	+	+	+	+	+
762	X	+	+	+	+	+	+
756	Viridans.	+	—	—	—	—	—
771	O	+	O	+	+	O	O
833	—	+	O	+	+	O	O
812	H	+	+	+	+	+	+
0	O	+	—	—	—	—	—
823	—	+	—	—	—	—	—
573	X	+	—	—	—	—	—
568	O	O	+	+	+	+	+
592	O	+	+	++	+	+	+
Souris blanches :							
3	X	O	+	+	+	O	O
27	O	O	O	+	+	O	O
0	O	+	+	+	+	O	O

caractères de culture, ils ne présentaient rien de particulier qui aurait permis de les classer dans un groupe déterminé. Ils ne liquéfiaient pas la gélatine et coagulaient le lait après deux à cinq jours à l'étuve (à l'exception de deux souches provenant de la souris). A peu d'exceptions près, les cultures étudiées décomposaient le glucose, la saccharose, la maltose et la mannite; 2 souches accusèrent une hémolyse prononcée, 3 sou-

ches, une moyenne et 3, une faible. 18 souches n'étaient pas hémolytiques et 3, *Strept. viridans* (voir tableau II).

Il est intéressant de noter que dans un sérum de convalescent de la scarlatine nous avons trouvé des agglutinines (1 : 640) et des anticorps fixant le complément en présence des streptocoques du cobaye, fait attestant une fois de plus que le streptocoque de la scarlatine ne peut être différencié au moyen des réactions sérologiques.

Nous avons vérifié la virulence de 15 souches streptococciques chez les lapins, cobayes et souris blanches; pas une ne se montra pathogène. 10 de ces souches furent étudiées au moyen de la réaction sous-cutanée de Dold'y chez les lapins; tous peuvent être placés dans le premier groupe, n'accusant que l'hypérémie et une légère infiltration. La tentative d'obtenir une toxine avec trois streptocoques (173, 812, 543) n'aboutit pas. Nous avonsensemencé ces souches streptococciques dans le filtrat de la muqueuse buccale d'un scarlatineux (pendant quarante-huit heures), après quoi tous les streptocoques donnèrent la réaction de Dick (solution 1 : 500).

Où se trouvent donc les streptocoques chez les animaux de laboratoire? Les résultats négatifs des recherches dans les organes parenchymateux, coïncidant avec des résultats positifs dans l'analyse du sang, permettent de supposer qu'ils résident principalement dans les muqueuses, les intestins et les glandes lymphatiques (chez les singes l'analyse de la muqueuse buccale a toujours donné le streptocoque). Sous l'action de l'inoculation, ils pénètrent dans le sang et s'ils ne furent pas pathogènes pour les animaux de laboratoire, le fait qu'ils peuvent le devenir est prouvé par leur faculté d'acquérir la propriété toxique dans le filtrat scarlatineux. Non seulement les singes, les lapins, les cobayes et les souris blanches se trouvèrent être porteurs de « microbes de sortie », mais aussi les chats (Kandylea et Sadowsky, Zlatogorof et Palant).

. . .

MICROBES DE SORTIE ET TUBERCULOSE SPONTANÉE DU COBAYE.

Des cobayes, non encore utilisés pour les expériences, provenant de notre succursale de campagne, étaient placés avec des cobayes sains. Les cobayes destinés aux expériences étaient

régulièrement pesés pendant trois, quatre semaines tous les trois ou quatre jours, afin d'établir la courbe de leur poids. Après quoi ils étaient soumis à la réaction thermique à la tuberculine. Celle-ci fut pratiquée (selon la méthode employée à l'Institut Pasteur, au laboratoire Calmette) de la façon suivante : on établissait la température moyenne des cobayes pendant deux jours, en prenant leur température trois fois par jour. Le matin du troisième, on prenait de nouveau leur température, après quoi on leur injectait 0 c. c. 0005 d'Alt-tuberculine dissoute dans 1 cent. cube de solution physiologique; après l'injection de tuberculine, la température était prise trois fois, à deux heures d'intervalle.

Les cobayes accusant une hausse de température de plus de 1° sur la température moyenne étaient considérés comme suspects de tuberculose; ils furent isolés et soumis à la diète subavitaminosée (au régime strictement avitaminosé, les cobayes périrent au bout de trois-quatre semaines; afin de prolonger leur existence — ce qui s'accordait avec la marche de l'expérience — on les soumit à la diète subavitaminosée). Les autres cobayes, qui n'accusèrent pas une différence trop marquée de température, furent également soumis aux différentes méthodes de sensibilisation dont il a été question.

Tous ces cobayes tués ou ayant péri naturellement à différentes époques (jusqu'à sept mois et demi) furent examinés. Dans le cas de lésions suspectes de tuberculose, les tissus et organes atteints étaient étudiés histologiquement et vérifiés par l'inoculation à des cobayes sains. Au total 124 cobayes furent ainsi expérimentés. Du début de l'expérience jusqu'à la tuberculinisation (trois quatre semaines, la différence de poids des cobayes fut de $-30 +$ à 80 grammes du poids initial de 200-350 grammes. Durant la période d'observation (soit sept mois et demi) la différence de poids fut de -30 à $+300$ grammes (2 cobayes ayant accusé une diminution de poids périrent avant l'expérience). La différence de température avant et après la tuberculinisation était de 0,30 à $= 1,4^{\circ}$. Chez 4 cobayes, la réaction thermique dépassa 1°.

Sur 124 cobayes, 12 périrent de causes étrangères à la tuberculose : 5 d'un épanchement dans la région pulmonaire (prise de sang du cœur), 2 de septicémie (Gram-négatif), 2 de péri-

tonite (diplocoque), 2 d'épuisement (diète subavitaminosée), 1 de péricardite purulente. Tous les autres furent sacrifiés à des époques différentes. Leur autopsie révéla un grossissement de la rate (jusqu'à trois fois son volume) dans 25 cas, 20 p. 100; l'hypertrophie de la glande bronchiale, du volume d'une lentille à celui d'un pois dans 2 cas, 1,5 p. 100; des glandes mésentériques de la grosseur d'un grain de mil jusqu'à celui d'un pois, dans 18 cas, 14 p. 100 des ganglions iliaques postérieurs atteignant le volume d'un grain d'orge, 1 p. 100; 6 cas de lésions suspectes de tuberculose sur le poumon, 5 p. 100, particulièrement des formations d'un gris semi-opaque ressemblant aux formations initiales des tubercules.

16 cobayes furent mis à la diète subavitaminosée. Pendant la période d'observation de quatre à sept mois et demi, l'accroissement de leur poids fut très lent, ils ne gagnèrent que de 30 à 50 grammes. Parmi ces cobayes, 2 périrent d'épuisement, le streptocoque fut trouvé chez 1 cobaye; des lésions suspectes enregistrées chez un autre cobaye furent reconnues non tuberculeuses. 13 cobayes, laissés comme témoins, accusèrent une augmentation de poids variant de 120 à 13 grammes. Le streptocoque fut trouvé chez un de ces cobayes.

En plus de ces animaux nous avons étudié au point de vue de la tuberculose près de 1.500 cobayes destinés aux expériences de notre collègue M. Tzekhnovitzer.

Sur les sujets ainsi étudiés, on a pu observer l'hypertrophie de la rate (jusqu'à quatre fois son volume); 36 p. 100, des hypertrophies des glandes mésentériques, de la grosseur d'un grain de chanvre au volume d'une lentille; 15 p. 100 des glandes bronchiales jusqu'au volume d'un grain d'orge; 3 p. 100, des lésions de poumons, d'aspect tuberculeux (d'un gris semi-opaque, de la grosseur d'un grain de chanvre à celle d'une tête d'épingle), 6 p. 100.

Parmi les cobayes aux lésions douteuses (hypertrophie de la rate et des glandes lymphatiques, lésions du poumon) plus de 100 furent vérifiés biologiquement. Plusieurs centaines de cobayes furent étudiés histologiquement.

Sur tout ce matériel, on n'a pu découvrir un seul cas de tuberculose. Nos résultats se trouvent en plein accord avec ceux de Sanctis Monaldi, dont les travaux, exécutés au labo-

ratoire Calmette, viennent d'être publiés et où l'auteur, parmi 92 cobayes, n'a pu trouver de lésions tuberculeuses.

Récapitulant ce qui a été dit plus haut, nous devons signaler que l'appareil lymphatique des cobayes présentait très souvent des modifications, même dans les conditions normales, aussi bien que sous l'influence de réactions d'un caractère non tuberculeux.

Comme nous l'avons dit, sur 124 cobayes soumis à la réaction tuberculinique, 16 accusèrent une hausse de température de plus de 1°. Il est d'usage de considérer cette réaction comme positive. Cependant, en aucun cas, on n'a découvert la tuberculose. Pareils faits furent déjà signalés dans les travaux de la Section de la tuberculose. Il est évident que la réaction thermique positive ne semble pas, nécessairement, indiquer l'infection tuberculeuse.

L'étude histologique de notre matériel fut exécutée sur les conseils de K. F. Elenovski, à qui nous témoignons notre reconnaissance.

Les nombreuses études de la rate et des glandes lymphatiques tuméfiées soulignent la nature non spécifique de cette hypertrophie.

Dans un cas, une lésion d'aspect tuberculeux, dans le poumon, était due à un parasite (cysticerque) de nature inconnue. Les formations de ce parasite présentaient un intérêt particulier, rendant les poumons d'un gris demi-opaque, macroscopiquement pareil au tubercule en voie de développement. A l'analyse histologique, elles parurent être des agglomérations lymphoïdes périvasculaires et péribronchiques. Ces formations, de caractère normal, remplissant vraisemblablement la fonction de nœuds lymphatiques, furent rencontrées chez 5 cobayes sur 124. Dans un cas, à l'analyse histologique de la formation lymphoïde, on a pu noter de rares cellules réticulo-endothéliales transformées, qui se présentaient dans ces foyers comme des cellules épithéliales et des cellules syncytiales. L'ensemencement de cette partie du poumon fut stérile, l'inoculation au cobaye, négative.

De même, fut négative l'inoculation à un cobaye sain, d'une partie du poumon d'un autre cobaye qui avait accusé à l'autopsie une lésion semblable à une caverne. Toutes les

formations d'aspect tuberculeux qui furent vérifiées par l'inoculation au cobaye donnèrent un résultat négatif.

De cette partie de nos travaux, on peut tirer les conclusions suivantes :

1° Le bacille tuberculeux, comme « microbe de sortie », ainsi que la tuberculose spontanée, s'ils se rencontrent chez les cobayes, sont exceptionnelles. Au cours de nos recherches, ils ne furent pas observés.

2° De ce fait, le cobaye, dans des conditions favorables à son entretien, apparaît comme un sujet d'étude parfait pour la tuberculose expérimentale.

3° Chez les cobayes non tuberculeux, on rencontre assez souvent, sur les coupes de divers organes parenchymateux, des formations à première vue semblables aux lésions tuberculeuses, mais qu'un examen histologique et biologique approfondi prouve être de caractère non spécifique. Ceci est très important pour établir le degré de virulence des souches tuberculeuses, par exemple du BCG.

Nos expériences ont démontré que les animaux de laboratoire comme les cobayes, les lapins, les souris blanches, les singes et les chats sont des porteurs de streptocoques comme « microbes de sortie ».

Sous l'action des différentes méthodes de sensibilisation et d'influences extérieures, ces streptocoques peuvent pénétrer dans le sang des animaux et simuler une infection, comme si elle était provoquée par eux.

D'où la nécessité de prendre des précautions pour exécuter des expériences avec les streptocoques sur les animaux de laboratoire. Ces animaux doivent être ultérieurement soumis à différentes épreuves (sensibilisation comprise) afin d'établir la présence du streptocoque.

Le streptocoque des animaux peut gagner en virulence et acquérir une toxicité, dont il était dépourvu, sous l'influence de facteurs sensibilisants.

Les cobayes, une fois la sélection faite, sont les animaux de prédilection pour les recherches sur la tuberculose et la crainte que le cobaye puisse être porteur de lésions tuberculeuses est peu justifiée.

Les lésions microscopiques d'aspect tuberculeux remarquées

parfois chez les cobayes, doivent être, afin d'éviter toute erreur, soigneusement examinées. Ceci a surtout son importance dans les recherches avec la culture BCG.

BIBLIOGRAPHIE

- M. NICOLLE, A. BOQUET. *Éléments de microbiologie générale et d'immunologie*, 2^e édition. G. Doin, Paris, 1926.
- S. ZLATOGOROFF. « Microbes de sortie » et leur rôle dans la pathologie. *Klin. med. russe*, n° 3, 1929.
- S. ZLATOGOROFF, S. DERKATCH et S. NASSL EDSCHWA. Der experim. Scharlach, *C. F. Bact.*, 1927, 97.
- S. ZLATOGOROFF. Zur Erkennung der Rückfallfichers. *D. med. Woch.*, n° 30, 1923.
- RAMSINE. Sur les formes filtrables des streptocoques et sur la nature de la toxine de Dick, *C. R. Soc. Biol.*, 1926, 94.
- PALANTE et KOUDRJAVZEVA, De la filtrabilité du streptocoque. *C. R. Soc. Biol.*, 1927, 96.
- ROSEN et KRITCH. La scarlatine expérimentale. *Presse méd.*, 1927.
- ET. BURNET. Etude de la toxine streptococcique sur diverses espèces animales. *Arch. de l'Inst. Pasteur de Tunis*, 1927, p. 233.
- G. SANARELLI. Sur la pathogénie du choléra. Recueil dédié au professeur Zlatogoroff, 1928.
- E. PARSONS et R. HYDE. Spontaneous strept. infections in guinea pigs. *The am. jour. of hyg.*, n° 3, 1928.
- DE SANCTIS MONALDI. Comportement de l'ultravirus tuberculeux dans l'organisme du cobaye. *C. R. Soc. Biol.*, 1929, p. 9.

NOUVEAUX MICROBES PATHOGÈNES POUR LES CHENILLES DE LA PYRALE DU MAIS

par V. CHORINE.

Ce travail fait suite aux études sur les microbes pathogènes des chenilles de *Pyrausta nubilalis* Hbn., que nous avons entreprises l'année dernière, le professeur Métalnicov et moi [5].

Depuis, nous avons isolé et étudié une série de microbes nouveaux, très pathogènes pour ces insectes. Un grand nombre de ces microbes ont été isolés des chenilles de *Pyrausta*, les autres ont été isolés des chenilles d'*Ephestia kühniella* Zell. Parmi les chenilles mortes de *Pyrausta*, nous avons trouvé parfois une infection double : des bactéries et des champignons en même temps.

Il nous a été possible d'isoler 12 espèces différentes de champignons ; mais malheureusement aucun d'eux ne s'est montré apte à infecter les chenilles de *Pyrausta per os*, ou à travers la chitine. L'infection par ces champignons n'est possible que par piqûres, ce qui empêche leur utilisation pratique et les rend beaucoup moins intéressants au point de vue scientifique.

La première série de microbes a été isolée des chenilles de *Pyrausta nubilalis* provenant du Canada. Grâce à l'obligeance de M. Ellinger et de M. Arthur Gibson, nous avons reçu plus de 5.000 chenilles pendant ces deux dernières années ; parmi ces chenilles, nous en avons trouvé une certaine quantité de mortes ou de malades. Leur maladie était d'origine bactérienne, car sur les frottis du sang des chenilles malades ou mortes, on trouve toujours une très grande quantité de microbes. Nous avons isolé de ces chenilles 9 souches de microbes ; certains d'entre eux se montraient identiques après l'analyse et il ne restait définitivement que 7 espèces de microbes bien définies. Trois sont peu virulentes pour les chenilles de *Pyrausta* et ne les infectent pas, lorsqu'elles sont ajoutées à leur nourriture, ce qui les rend beaucoup moins intéressantes. Ici nous ne don-

nerons que l'analyse des quatre microbes qui sont extrêmement virulents pour les chenilles et qui les infectent *per os*.

Dans le tableau ajouté à la fin de ce travail, j'ai résumé brièvement, pour plus de facilité, les propriétés biologiques de tous ces microbes, que je vais étudier.

Bacterium canadensis nov. sp.

Cette bactérie a été isolée au mois de Janvier 1928 des chenilles de *Pyrausta* provenant du Canada. Elle était associée avec un autre bâtonnet sporulé, mais qui se montrait peu virulent pour la Pyrale du Maïs.

MORPHOLOGIE. — C'est un bâtonnet assez grand, aux bouts coupés plus ou moins carrément, très mobile. La longueur des éléments varie entre 3 et 7 μ et la largeur entre 1 et 1,2 μ . Ce microbe produit une spore centrale dont le diamètre ne dépasse pas celui du corps bactérien (fig. 1).

COLORATION. — Ce microbe est colorable par toutes les couleurs basiques et prend le Gram.

ACTION DE L'OXYGÈNE. — Anaérobie facultatif.

LA TEMPÉRATURE OPTIMALE est d'environ 30°, mais le développement s'effectue aussi très bien à la température du laboratoire.

CARACTÈRES DES CULTURES. — *Bouillon ordinaire.* Un fort trouble apparaît vingt-quatre heures après l'ensemencement. Ondes soyeuses. Trois jours plus tard, un voile délicat se forme, qui tombe souvent au fond du tube, mais est bientôt remplacé par un autre. Le voile devient peu à peu plus résistant et plus épais. Les vieilles cultures s'éclaircissent en même temps qu'un dépôt se forme, et le voile disparaît.

Gélose. — Des colonies rondes, d'une teinte blanche, aux contours striés apparaissent vingt-quatre heures après l'ensemencement; leur centre est légèrement plus épais que la périphérie. L'enduit est très épais, lisse, parfaitement blanc.

Lait. — La coagulation n'est jamais complète; au bout de

vingt-quatre, quarante-huit heures la peptonisation commence et ordinairement elle est complète vers le dixième jour ou vers le douzième.

Lait tournesolé. — Pas de virage.

Petit-lait tournesolé. — Pas de changements caractéristiques.

Eau peptonée. — Le microbe produit l'indol.

Pomme de terre. — Un enduit très riche d'un blanc grisâtre

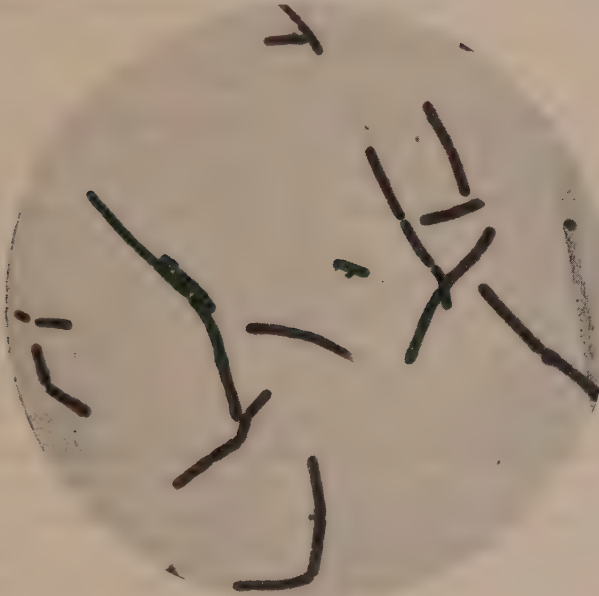


FIG. 1. — *Bacterium canadensis* nov. sp.
Culture de vingt-quatre heures sur la gélose, (1.100 X).

d'apparence assez sèche. Dans les vieilles cultures, l'enduit devient un peu visqueux.

Gélatine-piquée. — La liquéfaction de la gélatine, en forme d'entonnoir, commence vingt-quatre heures après l'ensemencement. Au bout de six à dix jours la liquéfaction est complète.

Sérum coagulé. — Liquéfaction partielle du sérum coagulé.

Blanc d'œuf. — Pas de liquéfaction.

Gélose au sous-acétate de plomb. — Pas de changements caractéristiques.

Eau peptonée additionnée d'azotate de potasse. — Forte réduction de nitrate en nitrite. Le développement est très fort.

Bouillon au rouge neutre. — Lente décoloration du rouge neutre.

Action sur les hydrates de carbone. — Ce microbe fait fermenter, sans production du gaz, le glucose, le lévulose, le saccharose et beaucoup plus faiblement le lactose et la mannite; il est sans action sur le galactose, le maltose et la glycérine.

Le tableau suivant montre le degré d'acidité développée par notre microbe dans le bouillon peptoné de viande additionné de sucre à 1 p. 100.

SUCRES	pH initial	pH après 72 heures	DIFFÉRENCE
Glucose	6,8	5,25	— 1,55
Lévulose.	6,7	5,25	— 1,45
Galactose	6,72	6,2	— 0,52
Saccharose.	6,8	5,3	— 1,5
Lactose	6,8	5,8	— 1,0
Maltose.	6,8	6,25	— 0,55
Mannite	6,82	5,9	— 0,92
Glycérine.	6,85	6,15	— 0,7
Bouillon sans sucre	6,9	6,2	— 0,7

Le bouillon dont nous nous sommes servi au cours de ces expériences ne contenait initialement aucun des hydrates de carbone mentionnés ci-dessus et il est certain que l'apparition de l'acidité, sans fermentation, provient de la formation de substances nouvelles à réaction acide aux dépens des substances autres que les sucres.

Action sur les insectes. — Espèce très pathogène pour les chenilles de *Galleria mellonella* L., d'*Ephestia kühniella* Zell et de *Pyrausta nubilalis* Hbn. Les chenilles de ces espèces étant injectées même avec une dose minime de l'émulsion très diluée meurent dans la proportion de 100 p. 100.

Les chenilles de *Pyrausta* s'infectent très facilement *per os*; le microbe, ajouté à leur nourriture, les contamine souvent dans la proportion de 90 p. 100 et même plus.

Par ses traits généraux, cette bactérie doit être rangée parmi les microbes saprophytes, voisins de la bactérie carbonneuse

dont elle se rapproche le plus, surtout du *Bacterium megatherium*, et d'autre part, de certaines espèces de microbes isolés des insectes, comme par exemple *Bacterium thuringiensis* de Berliner [4], le *Bacterium Zotto* de Ishiwata, le *Bacterium galleriae* n° 2 de Métalnicov et Chorine [2, 4] et de *Bacterium hoplosternum* de Paillot [6].

Quelques-unes de nos expériences de contamination des larves de Pyrale du Maïs ont été indiquées dans notre travail précédent cité ci-dessus [5].

Coccobacillus gibsoni nov. sp.

ORIGINE. — Ce microbe a été isolé au mois de Novembre 1928. Dans le sang des chenilles malades et mourantes, on ne trouva que ce microbe en culture pure ; il existait chez la plupart des chenilles malades dans le lot que nous avons reçu dernièrement du Canada. Nous en avons isolé plusieurs souches ; il est certain qu'il s'agit ici du microbe qui causait cette maladie.

MORPHOLOGIE. — C'est un microbe très polymorphe ; on y trouve des cocci, des coccobacilles typiques ; cette forme est d'ailleurs la plus répandue, et même les grands bâtonnets, qui probablement ne sont autre chose que des formes d'involution. La longueur de ce bacille varie entre 1 et 5 μ , la largeur entre 0,5 et 0,6 μ ; il est mobile, portant à sa périphérie de 10 à 16 cils environ, quelquefois plus ; non sporulé (fig. 2).

COLORATION. — Le microbe se colore facilement par toutes les couleurs couramment employées en bactériologie, ne prend pas le Gram.

ANAÉROBIOSE. — Anaérobie facultatif.

TEMPÉRATURE OPTIMALE. — Le développement est très rapide entre 20 et 30° ; au delà de cette limite la croissance devient plus lente.

CARACTÈRE DES CULTURES. — *Bouillon de viande peptoné*. — Le bacille forme un trouble extrêmement épais quelques heures

après l'ensemencement. Pas de voile, pas d'anneau. Odeur caractéristique.

Gélose. — 24 heures après l'ensemencement, des grandes colonies blanchâtres apparaissent; elles sont parfaitement rondes et beaucoup plus épaisses au centre qu'à la périphérie. Quelques jours plus tard, la consistance de la colonie devient

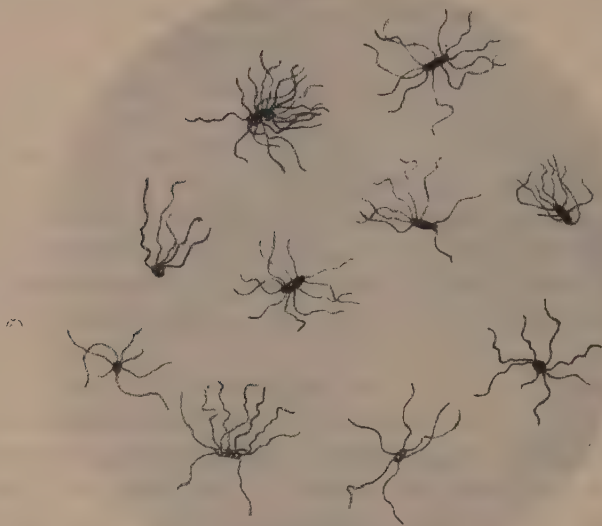


FIG. 2. — *Coccobacillus gibsoni* nov. sp. Culture de vingt heures, sur la gélose, colorée par la méthode de Löffler-Nicolle-Morax.

demi-liquide, de telle sorte que la masse des bactéries s'écoule au fond du tube en peu de temps.

Lait. — Le microbe coagule le lait en 24-48 heures, mais ne produit pas d'autre changement.

Lait tournesolé. — Présente un virage au rouge pendant les premiers jours, puis une décoloration graduelle de tournesol.

Petit-lait tournesolé. — Ce microbe produit le phénomène de caméléonage typique : 24 heures après l'ensemencement, le milieu devient rouge vif; 2 ou 3 jours après, il redevient bleu,

pour devenir violet, puis rouge à nouveau au bout de 23 à 30 jours.

Eau peptonée. — Faible production d'indol.

Pomme de terre. — Un très riche enduit visqueux d'un blanc grisâtre, de même que sur la gélose s'écoule peu à peu au fond du tube.

Gélatine-piqure. — La bactérie liquéfie intensivement la gélatine sous forme d'entonnoir. Au bout de 10 à 12 jours, la liquéfaction est complète.

Sérum coagulé. — Le microbe attaque le sérum coagulé.

Blanc d'œuf. — Pas de liquéfaction.

Gélose au sous-acétate de plomb. — Le milieu noircit en quelques jours.

Eau peptonée additionnée d'azotate de potasse. — Forte réduction de nitrate en nitrite.

Bouillon au rouge neutre. — Décoloration progressive du rouge neutre ; pas de fluorescence.

Action sur les hydrates de carbone. — Le microbe fait fermenter avec production du gaz, les hydrates de carbone suivants : le glucose, le lévulose, le galactose, le maltose, la mannite, la glycérine et plus faiblement le lactose.

Dans le tableau ci-dessous, j'ai indiqué l'acidité terminale développée par ce microbe au bout de 72 heures dans le bouillon de viande peptonée, auquel a été ajouté 1 p. 100 de sucre.

SUCRES	pH initial	pH après 72 heures	DIFFÉRENCE
Glucose	6,8	5,08	— 1,72
Lévulose	6,7	5,01	— 1,69
Galactose	6,72	6,03	— 0,69
Lactose	6,8	6,5	— 0,3
Saccharose	6,8	4,97	— 1,83
Maltose	6,8	5,33	— 1,47
Mannite	6,82	5,18	— 1,64
Glycérine	6,85	5,16	— 1,25
Bouillon sans sucre	6,9	6,9	— 0

ACTION SUR LES INSECTES. — Ce microbe est extrêmement virulent pour les chenilles *Pyrausta*, par l'injection ; il les infecte aussi *per os* lorsqu'il est ajouté à leur nourriture.

Je citerai deux de nos nombreuses expériences sur la contamination par la voie buccale, des chenilles de *Pyrausta*, avec cette bactérie.

Le 18 Janvier 1929, 10 chenilles ont été mises dans un bocal contenant des morceaux de tige d'armoise *Artemisia vulgaris* mouillés avec de la culture de bouillon de 24 heures de cette bactérie. Comme contrôle, nous avons pris 10 chenilles et nous les avons mises dans un bocal contenant les morceaux de tige d'armoise mouillés avec le bouillon stérile. Au bout de 24 heures, parmi les chenilles infectées, il y en avait 6 de mortes et au bout de trois jours, il ne restait que 2 chenilles vivantes ; tandis que les chenilles témoins restaient bien portantes jusqu'à la fin de l'expérience, c'est-à-dire 12 jours après. Cette expérience a été faite à la température de 28°.

La seconde expérience a été faite le 27 mars 1929, dans les mêmes conditions que la précédente et également sur 10 chenilles. Nous avons obtenu les résultats suivants :

24 heures après la contamination 5 chenilles sont mortes et, 6 jours après, 2 autres également ; 3 chenilles ont survécu ; les chenilles de contrôle sont toutes restées vivantes.

Bacterium ontarioni nov. sp.

Cette culture a été isolée, de même que le microbe précédent, de chenilles malades reçues dernièrement du Canada.

MORPHOLOGIE. — C'est un bâtonnet droit avec les bouts plus ou moins arrondis ; il est mobile et produit au milieu du corps une spore qui ordinairement ne dépasse pas le diamètre du bactérie. Sa longueur varie entre 3 et 6 μ et sa largeur est d'environ 1,2 μ (fig. 3).

COLORATION. — Le microbe est facilement colorable ; il prend le Gram, mais se décolore facilement par l'action un peu plus prolongé de l'alcool absolu.

ANAÉROBIOSE. — Aérobie facultatif.

TEMPÉRATURE OPTIMALE. — 30° environ.

CARACTÈRES DES CULTURES. — *Bouillon de viande peptoné*. — Le développement dans le bouillon est très caractéristique. 24 heures après l'ensemencement, on voit apparaître, dans le milieu, des petits grumeaux, en apparence du même genre que ceux qu'on observe quand le microbe est agglutiné, et qui se précipitent les jours suivants. Ensuite un large anneau se forme : pas de



FIG. 3. — *Bacterium ontarioni* nov. sp.
Culture de vingt-quatre heures sur la gélouse, (1.100X).

voile ; le liquide reste parfaitement clair. Un abondant dépôt se forme graduellement.

Gélose ordinaire. — Sur la gélose, le microbe produit des colonies d'une forme très irrégulière, ridées, colorées en jaune clair.

Lait. — Le microbe produit la peptonisation du lait sans le coaguler complètement.

Lait tournesolé. — Pas de changement caractéristique.

Petit-lait tournesolé. — Pas de virage.

Eau peptonée. — Absence d'indol.

Pomme de terre. — Un riche enduit jaune clair, d'apparence assez sèche, devient ensuite très visqueux.

Gélatine-piqure. — Le microbe liquéfie la gélatine, mais pas très intensivement. Un mois après l'ensemencement, une partie de la gélatine reste encore intacte. La liquéfaction se produit en forme d'entonnoir.

Sérum coagulé. — Le microbe attaque le sérum coagulé : la liquéfaction n'est jamais complète.

Blanc d'œuf coagulé. — Pas de changement.

Gélose au sous-acétate de plomb. — Pas de changements caractéristiques.

Eau peptonée additionnée de nitrate de potasse. — Pas de réduction de nitrate en nitrite.

Bouillon au rouge neutre. — Pas de changements caractéristiques.

Action sur les hydrates de carbone. — Cette bactérie est sans action sur les hydrates de carbone utilisés. Elle n'attaque ni le glucose, ni le lévulose, ni le galactose, ni le saccharose, ni le maltose, ni le lactose, ni la mannite, ni la glycérine.

Action sur les insectes. — Ce microbe est extrêmement virulent pour les chenilles de *Galleria mellonella* L., pour les chenilles d'*Ephestia kuhlilla* Zell. et pour les chenilles de *Pyrausta nubilalis* Hbn par injection. L'inoculation d'une dose minime de ce microbe provoque toujours une maladie mortelle; mais il infecte aussi les chenilles de *Pyrausta per os* dans la proportion de 50 p. 100 environ, lorsqu'il est ajouté à leur nourriture.

Je citerai une de nos expériences, faite à la température de 30°.

Le 16 janvier 1929, 10 chenilles ont été infectées par la voie buccale avec la culture de trois jours de cette bactérie, de la manière que j'ai indiquée précédemment. Parmi ces chenilles 4 sont mortes au bout de deux jours; 2 autres sont mortes également dans les deux jours suivants et 4 chenilles ont survécu. Les chenilles témoins sont toutes restées vivantes.

Bacterium christiei nos. sp.

ORIGINE. — Nous avons obtenu cette culture à partir des chenilles malades du même lot, dont nous avons isolé le microbe précédent et nous en possédons plusieurs souches.

Par ses propriétés biologiques, ce microbe se rapproche du microbe précédent, mais il s'en distingue sensiblement par sa morphologie et son développement sur les divers milieux.

MORPHOLOGIE. — C'est une sorte de bâtonnet très épais, sporulé, mobile, de 2,5 à 3 μ de longueur sur 1,5 μ de largeur. Le plus souvent deux éléments sont unis l'un à l'autre, et parfois

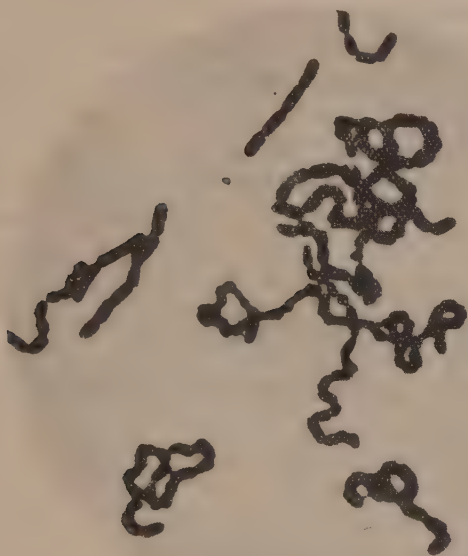


FIG. 4. — *Bacterium christei* nov. sp.
Culture de vingt-quatre heures sur la gélose (1.100 X).

même en longues chainettes, recourbées d'une façon très caractéristique. Ce microbe donne très vite les formes d'involution les plus variées (fig. 4).

COLORATION. — Le microbe se colore avec toutes les couleurs couramment employées en bactériologie; il prend le Gram, mais se décolore avec une grande facilité par l'alcool absolu.

AÉROBIOSE. — Aérobie facultatif.

TEMPÉRATURE OPTIMALE. — 25 à 30° environ.

CARACTÈRES DES CULTURES. — *Bouillon de viande peptoné*. — Le développement dans le bouillon rappelle beaucoup celui du microbe précédent, mais les grumeaux sont plus petits et l'anneau moins marqué.

Gélose ordinaire. — Colonies plus ou moins rondes, lisses, complètement blanches. L'enduit est très riche, d'apparence humide, très rarement ridé. Au bout de quelques jours, le substrat brunit et devient bientôt brun-foncé.

Pomme de terre. — Enduit très riche, très visqueux et d'un blanc grisâtre.

Les autres caractères de ce bacille sont identiques à ceux du microbe précédent. Ces deux microbes, doivent être rangés parmi les bacilles saprophytes voisins des bactéries charbonneuses.

Ce microbe est plus pathogène que le précédent. Tandis que la culture n° 3 tue environ 50 p. 100 des chenilles, la quatrième donne une mortalité plus élevée.

Voici quelques-unes de nos expériences faites avec ce dernier microbe.

Le 16 janvier 1929, 10 chenilles ont été infectées *per os* avec la culture en bouillon de trois jours.

8 des chenilles contaminées tombent malades et meurent au bout de deux jours; 2 chenilles survivent. Les chenilles témoins restent toutes vivantes. Cette expérience a été faite à la température de 30°.

L'expérience suivante faite avec la même culture le 19 février à la température du laboratoire.

10 chenilles ont été infectées *per os* avec une culture en bouillon de vingt-quatre heures.

Quarante-huit heures après la contamination, 6 chenilles sont mortes; trois jours après, une autre meurt encore; 3 chenilles survivent. Parmi les chenilles témoins, une meurt au bout de quatre jours, les 9 autres restent bien portantes.

Les nombreuses expériences de contamination avec tous ces microbes, qui ont été faites sur plus de 600 chenilles montrent que c'est surtout la première culture qui est virulente. On

arrive même souvent à en infecter 100 p. 100. La seconde culture, bien qu'aussi virulente, ne produit pas de spores et sa vitalité est plus limitée que chez les autres microbes sporulés; les deux derniers microbes sont moins virulents.

Au mois de juillet 1928, dans notre culture de toutes jeunes chenilles de Pyrale de Maïs, nous avons observé une mortalité assez grande.

De ces chenilles malades, nous avons isolé deux espèces de champignons et un microcoque. Ce dernier microbe s'est montré très virulent pour les chenilles adultes par l'injection, et capable de les infecter *per os*, mais en proportion assez faible. Malheureusement il nous a été impossible d'étudier son action sur les chenilles très jeunes, desquelles il avait été isolé. Comme au point de vue pratique, la contamination des petites chenilles est la plus importante, nous avons cru utile d'étudier ce microbe de plus près.

Micrococcus curtissi nov. sp.

MORPHOLOGIE. — C'est un microcoque typique; le diamètre des cocci est environ d'un μ . Il est immobile. Souvent les cocci sont unis l'un à l'autre en courtes chaînettes de deux à cinq éléments (fig. 5).

COLORATION. — Il est colorable par toutes les couleurs couramment employées en bactériologie. Gram positif.

ANAÉROBIOSE. — Le microbe est anaérobie facultatif.

LA TEMPÉRATURE OPTIMALE est de 23° environ.

CARACTÈRES DES CULTURES. — *Bouillon ordinaire*. — Un trouble parfaitement homogène apparaît vingt-quatre heures après l'ensemencement. Pas d'ondes soyeuses. Un léger anneau se forme trois jours plus tard, et devient ensuite épais. Sur la surface, on voit des fragments isolés du voile qui tombe souvent au fond du tube. Un grand dépôt très visqueux se forme graduellement; les vieilles cultures ne s'éclaircissent pas.

Gélose. — Les colonies blanches, parfaitement rondes, aux contours réguliers, apparaissent un jour après l'ensemencement.

ment; l'épaisseur de la colonie est à peu près la même au centre qu'à la périphérie. Dans les vieilles cultures, l'enduit devient extrêmement visqueux.

Lait. — Vingt-cinq jours après l'ensemencement, on ne remarque aucun changement.

Lait tournesolé. — Un faible virage au rouge se produit quelques jours après l'ensemencement.

Petit lait tournesolé. — Très lent et progressif virage au

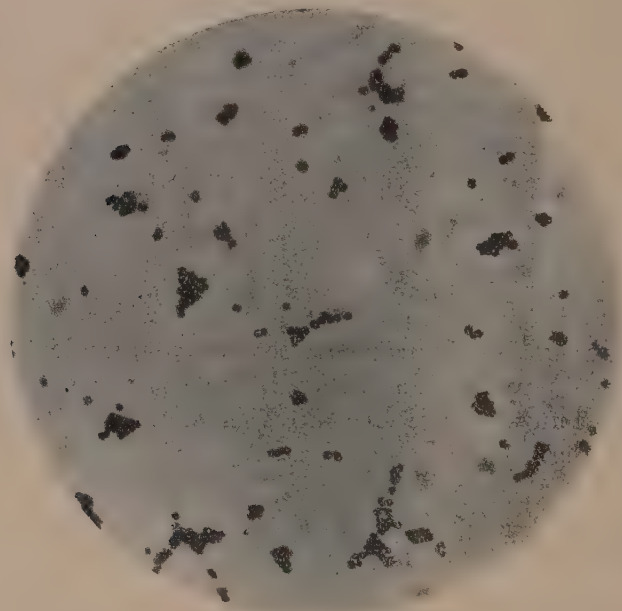


FIG. 5. — *Micrococcus curtissi* nov. sp.
Culture de vingt-quatre heures sur la gélose (1.400 X).

rouge. Le milieu devient rouge vif au bout de quinze, à vingt jours seulement.

Eau peptonée. — Le microbe ne produit pas d'indol.

Pomme de terre. — Un riche enduit blanc, un peu sec d'apparence.

Gélatine pigée. — Le microcoque liquéfie lentement la gélatine; au bout de trente-cinq jours seulement $\frac{1}{3}$ du milieu est liquifié. La liquéfaction se produit en forme d'entonnoir.

Sérum coagulé. — Légère liquéfaction au bout de quinze jours.

Blanc d'œuf coagulé. — Le microbe n'attaque pas le sérum coagulé.

Gélose au sous-acétate de plomb. — Le microbe n'y produit pas de changement.

Eau peptonée additionnée de nitrate de potasse. — Le microcoque opère la réduction de nitrate en nitrite.

Bouillon au rouge neutre. — Pas de changements caractéristiques.

Action sur les hydrates de carbone. — Ce microbe fait fermenter sans production de gaz les hydrates de carbone suivants : le glucose le lévulose, le saccharose, le mallose, et plus faiblement le galactose et la mannite. Il est sans action sur le lactose et la glycérine.

Dans le tableau ci-dessous nous indiquons l'acidité développée par ce microbe, au bout de soixante-douze heures, dans le bouillon peptoné de viande additionné de sucre à 1 p. 100.

HYDRATES DE CARBONE	pH initial	pH après 72 heures	DIFFÉRENCE
Glucose	6,8	5,2	— 1,6
Lévulose	6,7	5,1	— 1,6
Galactose	6,72	6,2	— 1,52
Saccharose	6,8	5,2	— 1,6
Mallose	6,8	5,35	— 1,45
Lactose	6,8	6,8	— 0
Mannite	6,82	6,2	— 0,62
Glycérine	6,85	6,8	— 0,05
Bouillon sans sucre	6,9	6,8	— 0,1

ACTION SUR LES INSECTES. — Nous avons déjà indiqué la virulence du microbe pour le *Pyrausta nubilalis* Hbn; il est également virulent par injection pour les chenilles d'*Ephestia kuhniella* Zell.; les chenilles de *Galleria* se sont montrées plus résistantes.

En 1915, M. Berlinger a réussi à isoler une bactérie très virulente des chenilles d'*Ephestia kuhniella* Zell, qu'il a nommée *Bacterium thuringiensis*.

L'année dernière, Husz [3] a tenté d'infecter *per os* les chenilles de Pyrale du Maïs avec cette bactérie, et, comme on le

sait, il a obtenu de très bons résultats. Presque 100 p. 100 des chenilles ont contracté la maladie et sont mortes en peu de jours.

Prell a obtenu les mêmes résultats.

Nous avons la culture d'*Ephestia* depuis une année. Cette culture est très infectée par les différents parasites. Il y a toujours une certaine quantité de chenilles mortes à la suite d'une infection microbienne, qui se traduit extérieurement par le changement de teinte des chenilles, très caractéristique. Les deux extrémités des chenilles deviennent noires, tandis que la partie moyenne reste d'un blanc rosâtre. L'analyse du sang nous a montré que cette maladie est provoquée par l'association de deux microbes : un grand bâtonnet mobile et un microcoque que nous avons isolé sur les milieux artificiels. Nous avons isolé deux souches du grand bacille qui diffèrent un peu l'une de l'autre. Le streptocoque se montrait presque inoffensif pour les chenilles de *Pyrausta*.

Il est probable qu'il s'agit ici de la même infection qui a été observée par Berliner, car l'étiologie de ces deux maladies est identique. De même Berliner a isolé deux microbes, un grand bâtonnet et un microcoque.

La grande bactérie que nous venons d'isoler est probablement le *Bacterium thuringiensis*. L'aspect microscopique des microbes est identique, de même que l'aspect microscopique des colonies, très bien étudié par Berliner, mais malheureusement l'analyse des propriétés biologiques manque dans le mémoire de cet auteur et il est impossible de faire une identification précise. Nous avons fait l'analyse et nous avons obtenu les résultats suivants.

MORPHOLOGIE. — C'est un grand bâtonnet droit, mobile, aux bouts coupés plus ou moins carrément et mesurant jusqu'à 7 ou 8 μ . Il produit une spore près d'une des extrémités du corps (fig. 6).

COLORATION. — Le microbe se colore facilement et prend le Gram.

ANAÉROBIOSE. — Anaérobie facultatif.

LA TEMPÉRATURE OPTIMALE est de 20 à 30°.

CARACTÈRES DES CULTURES. — *Bouillon ordinaire*. Un trouble se forme au bout de vingt-quatre heures après l'ensemencement. Un voile, d'abord très délicat, puis de plus en plus résistant, apparaît deux ou trois jours après; progressivement il devient très épais, très plissé et s'étale sur les côtés du tube. Un grand dépôt pulvérulent se dépose au fond. Le milieu s'éclaircit au bout de douze à quinze jours. La réaction du

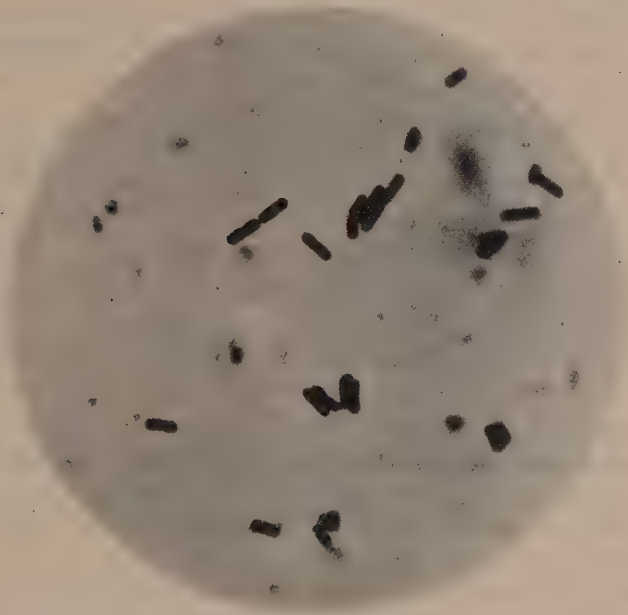


FIG. 6. — Microbe isolé des chenilles d'*Ephestia kühniella* Zell.
Culture de vingt-quatre heures sur la gélose (1.100 X).

bouillon devient très alcaline. Au bout de trente jours le pH est 7,9, tandis que le pH initial du bouillon est égal à 6,9.

Gélose. — Enduit blanc, plus sec d'apparence.

Gélose de Sabouraud. — La culture ressemble beaucoup à celle sur la gélose ordinaire, mais elle est un peu plus riche.

Gélose glycinée à 5 p. 100. — L'enduit est un peu verdâtre, d'apparence humide; il est moins plissé que sur la gélose ordinaire.

Lait. — L'action de ce microbe sur le lait est différente sui-

vant les souches; toutes les deux le coagulent dans l'espace de deux ou trois jours, mais la souche n° 1 produit la peptonisation qui est complète au bout de dix ou douze jours, tandis que la souche n° 2 ne la produit pas du tout.

Lait tournesolé. — La souche n° 1 ne produit pas de changement de teinte appréciable, tandis que la souche n° 2 produit un lent virage au rose et la décoloration du tournesol dans la partie supérieure du milieu.

Petit-lait tournesolé. — Les deux races de microbes présentent un virage au rose les premiers jours après l'ensemencement; les jours suivants, le milieuensemencé avec la première

HYDRATES DE CARBONE	pH initial	pH après 72 heures	DIFFÉRENCE
Glucose	6,8	5,3	— 1,5
Lévyulose.	6,7	5,95	— 0,75
Galactose	6,72	6,1	— 0,62
Saccharose.	6,8	5,55	— 1,25
Maltose.	6,8	5,4	— 1,4
Lactose	6,8	6,25	— 1,55
Mannite	6,82	5,85	— 0,97
Glycérine.	6,85	6,3	— 0,55
Bouillon sans sucre	6,9	6,3	— 0,6

souche redevient bleu; ensemencé avec la deuxième souche, il reste rose.

Eau peptonée. — Le microbe ne produit pas d'indol.

Pomme de terre. — Un riche enduit blanc, très plissé, sec d'apparence.

Gélatine piquée. — Le microbe liquéfie lentement la gélatine en forme d'entonnoir.

Sérum coagulé. — Liquéfaction partielle du sérum coagulé.

Blanc d'œuf coagulé. — Le microbe n'attaque pas le blanc d'œuf coagulé.

Gélose au sous-acétate de plomb. — Pas de changements caractéristiques.

Eau peptonée additionnée d'azotate de potasse. — Le microbe produit une forte réduction de nitrate en nitrite.

Bouillon au rouge neutre. — La bactérie produit une décoloration progressive du rouge-neutre.

Action sur les hydrates de carbone. — Ce microbe fait fermenter sans production de gaz les hydrates de carbone suivants : le glucose, le saccharose, le maltose, le lactose, et plus faiblement le lévulose et la mannite; il n'attaque ni le galactose ni la glycérine.

Le tableau de la page précédente indique l'acidité développée par ce microbe en soixante-douze heures.

Ce microbe produit alors des changements de l'acidité très caractéristiques dans le bouillon; les premiers jours le milieu devient acide, pour redevenir très alcalin ensuite.

ACTION SUR LES INSECTES. — Berliner a indiqué que le *Bacterium thuringiensis* est extrêmement virulent pour plusieurs espèces d'insectes, et qu'il peut infecter *per os* les chenilles d'*Ephesia kühniella* Zell.

Husz a démontré que la contamination des chenilles de *Pyrausta* est facile. De même, nous avons fait plusieurs expériences d'infection *per os* sur les chenilles de la Pyrale du Maïs; notre microbe donne des résultats très constants; presque toujours 100 p. 100 des chenilles contractent la maladie et meurent peu de temps après.

Ce microbe doit être rangé parmi les plus virulents pour ces insectes, comme par exemple *Bacterium galleriæ* n° 2, le *Bacterium canadensis*, le *Coccobacillus ellingeri*, etc.

Ce qui est intéressant, c'est que la maladie analogue d'*Ephesia kühniella* Zell est très répandue. En 1927 G. E. White l'a observée dans l'Amérique du Nord à Washington [7].

Dernièrement, grâce à l'obligeance de M. Parker, il nous a été possible d'étudier une épidémie d'origine bactérienne qui avait éclaté dans ses cultures, et il nous a été possible d'isoler encore une série de microbes très pathogènes pour les *Pyrausta*.

Tous ces faits démontrent que les chenilles de la Pyrale du Maïs sont très sensibles vis-à-vis de plusieurs espèces bactériennes et qu'elles s'infectent avec une grande facilité par la voie buccale.

Les expériences qui ont été faites jusqu'à présent dans les laboratoires, dont les conditions diffèrent naturellement de celles de la nature, doivent être vérifiées par des expériences de contamination des chenilles de *Pyrausta* dans les champs de

Propriétés biologiques des nouveaux micro

	<i>Bacterium canadensis</i>	<i>Coccobacillus gibsoni</i>
Mobilité	+	+
Coloration par la méthode de Gram	+	—
Formation des spores	+	—
Dimensions des éléments	Longueur : 3-6 μ ; largeur : 1-1,2 μ .	Longueur : 1-5 μ ; largeur : 0,5-0,6 μ .
Aérobiose	±	±
Liquéfaction de la gélatine	+	+
Coagulation du lait	Incomplète. Peptonisation.	+
Lait tournesolé	Pas de changements caractéristiques.	Virage au rouge au bout de 24-48 heures.
Petit-lait tournesolé	Pas de virage.	Le phénomène de cantharidation est très net.
Liquéfaction du sérum coagulé	+	+
Digestion du blanc d'œuf coagulé	—	—
Formation d'indol	—	±
Dégagement de H ² S	—	+
Transformation de nitrate en nitrite	+	+
Action sur le rouge-neutre	+	+
Développement sur la gélose	Colonies rondes lisses, au contour strié, plus ou moins plates.	Blanches colonies rondes très convexes qui s'écartent lent en peu de jours du tube.
„Développement„ dans le bouillon	Ondes soyeuses, un voile, le milieu s'éclaircit.	Pas de voile, pas de trouble, le trouble extrêmement épais.
Développement sur la pomme de terre	Enduit très riche, blanchâtre, d'apparence très sec.	Enduit visqueux s'écarte peu à peu au fond du tube.
Pigment	—	—
Fermentation des sucres :		
Glucose	+	+
Lévéulose	+	+
Galactose	—	+
Maltose	—	+
Saccharose	+	+
Lactose	+	+
Mannite	—	+
Glycérine	—	+
Production du gaz en milieu sucré	—	+
„Observations	Espèce extrêmement pathogène pour plusieurs espèces d'insectes.	Le microbe est très pathogène pour les chenilles de <i>Pyrausta</i> les infecte <i>per os</i> .

ogènes pour les chenilles des Pyrales du Maïs.

<i>Bacterium onlarioni</i>	<i>Bacterium cristiei</i>	<i>Micrococcus curtissi</i>	MICROBE ISOLÉ des chenilles d' <i>Ephestia</i> <i>kühniella</i> Zell. <i>Bacterium thuringiensis</i> (?)
+	+	—	+
+	+	+	+
+	+	—	+
Longueur : 3-6 μ ;	Longueur : 2,5-3 μ ;	Le diamètre des cocci	Longueur : jusqu'à 7-8 μ ;
largeur : 1,2 μ .	largeur : 1,5 μ .	est d'environ 1 μ .	largeur : 1,2 μ .
±	±	±	±
+ (lente).	+ (lente).	+	+
complète. Peptoni-	Incomplète. Peptoni-	—	Incomplète. (voir le
sation.	sation.		texte).
as de virage.	Pas de virage.	Un faible virage au	Voir le texte.
as de virage.	Pas de virage.	rouge.	Virage au rouge.
		Un lent et progressif	
		virage au rouge.	
+ (lente).	+ (lente).	+	+
—	—	—	—
—	—	—	—
—	—	—	—
—	—	+	+
—	—	—	+
Colonies irrégulières,	Colonies lisses plus	Colonies rondes,	Un enduit blanc, plissé,
ridées, colorées en	ou moins rondes	blanches, plus ou	d'apparence sec.
jaune clair.	d'une teinte blan-	moins plates, très	
	châtre.	visqueuses.	
développement se	Le développement se	Un trouble épais, un	Un voile plissé. Le mi-
produit sous forme	produit sous forme	anneau, fragments	lieu s'éclaircit en
de grumeaux.	de grumeaux.	de voile.	12-15 jours.
Un riche enduit jaune	Un riche enduit très	Un riche enduit blanc	Un enduit blanc très
clair d'apparence	visqueux coloré en	grisâtre.	plissé d'apparence sec.
très sec.	blanc grisâtre.		
une.	Brun foncé.	—	—
—	—	+	+
—	—	+	+
—	—	+	+
—	—	+	+
—	—	+	+
—	—	+	+
—	—	+	+
—	—	—	—
—	—	—	—
—	—	—	—
Microbe pathogène	Microbe pathogène	Microbe très patho-	Microbe extrêmement
pour plusieurs es-	pour plusieurs es-	gène pour les in-	virulent pour les in-
pèces d'insectes et	pèces d'insectes et	sectes par l'injec-	sectes ; infecte plu-
infecte les chenilles	infecte les chenilles	tion, infecte les che-	sieurs espèces <i>per os</i> .
de <i>Pyrausta per os</i> .	de <i>Pyrausta per os</i> .	nilles de <i>Pyrausta</i>	
		<i>per os</i> en faible pro-	
		portion.	

Maïs : les résultats qu'on obtiendra montreront si la méthode bactériologique est efficace dans la lutte contre ces insectes nuisibles.

BIBLIOGRAPHIE

- [1] BERLINER (E.), Über die Schlaffsucht der Mehlmottenraupen (*Ephestia kühniella* Zell.) und ihren *Bacillus thuringiensis* n. sp. *Zeitschrift für angewandte Entomologie*, 2, n° 1, p. 29-56.
- [2] CHORINE (V.), Microbes provoquant une maladie mortelle chez les chenilles de *Galleria mellonella*. *C. R. Soc. Biol.*, 95, p. 199-201.
- [3] HUSZ (B.), *Bacillus thuringiensis* Ber., a bacterium pathogenic to corn borer larvae. A preliminary report. International Corn Borer Investigation. Scientific Reports. Edited By T. Ellinger, p. 191.
- [4] METALNICOV (S.), Une épizootie chez les chenilles de *Galleria mellonella*. *C. R. Ac. Sc.*, 175, 1922, p. 60-70.
- [5] METALNICOV (S.) et CHORINE. V. Maladies microbiennes chez les Pyrales de maïs (*Pyrausta nubilalis* Hübn.). *Ces Annales*, 42, 1928, p. 635-661 et 1929, 43, p. 136-152.
- [6] PAILLOT (A.), Contribution à l'étude des parasites microbiens des insectes. Études de *Bacillus hoplosternum* (Paillot.). *Ces Annales*, 33, 1919, p. 403-449.
- [7] WHITE (G.-H.). A protozoan and bacterial disease of *Ephestia kühniella* Zell. *Proceeding of Entomological Society of Washington*, 29, 1927, p. 147-148.

ERRATUM

Dans le travail du professeur Pittaluga et du D^r Garcia paru dans ces *Annales*, n° 10, octobre 1929, une erreur s'est glissée dans la composition de la table des enfants témoins, p. 1253. En tête des quatre dernières colonnes, de gauche à droite :

Au lieu de *Lymphocytes*, lire **Granulocytes** ;
Au lieu de *Monocytes*, lire **Lymphocytes** ;
Au lieu de *Eosinophiles*, lire **Monocytes** ;
Au lieu de *Granulocytes*, lire **Eosinophiles**.

TABLE DES MATIÈRES

Étude sur les septinévrites à ultravirus neurotropes, par S. NICOLAU, M ^{me} O. DIMANCESCO-NICOLAU et I.-A. GAL- LOWAY	1
Pathogénie des spirochétoses ictérogènes (<i>premier mé- moire</i>). Spirochétoses et microbes de sortie, par le professeur G. SANARELLI et le D ^r G. PERGHER	89
Immunisation contre la diphtérie au moyen de l'ana- toxine, par MM. P.-J. MOLONEY, D.-T. FRASER et M ^{lle} C.-J. FRASER	124
Effet de l'immunité passive sur l'immunisation active par l'anatoxine diphtérique, par P.-J. MOLONEY et M ^{lle} C.-J. FRASER	129
Maladies microbiennes chez les chenilles de <i>Pyrausta nubilalis</i> (<i>deuxième mémoire</i>), par S. METALNIKOV et V. CHORINE	136
La rage du coq, par P. REMLINGER et J. BAILLY.	153
Au sujet de la vaccination BCG et de son innocuité, par M. CIUCA, M. FRANCKE et Z. VITNER-ROSENTHAL. . . .	168
L'immunisation antidiphtérique par l'anatoxine à l'hô- pital des Enfants-Malades (organisation et fonction- nement d'un centre de prophylaxie antidiphtérique), par MM. LEREBOULLET et J.-J. GOURNAY	181
Ultrafiltration, dialyse, osmométrie au moyen de sacs en collodion, par M. SIGAUD.	190
Étude cytologique des rapports entre parasite et cellule végétale, par J. DUFRENOY	218
Étude clinico-thérapeutique et anatomo-pathologique sur l'épidémie de paralysie infantile qui a sévi en Rou- manie pendant l'année 1927, par MM. MARINESCO, M. MANICATIDE et STATE-DRAGANESCO (de Bucarest). .	223

Fernand VIDAL	279
Sur la variabilité des caractères de l'espèce chez les dermatophytes, par le D ^r R. BILTRIS	281
Quelques considérations sur la bactériophagie (théorie de l'autolyse et théorie des facteurs héréditaires), par E. WOLLMANN	359
Contribution à l'étude expérimentale d'un virus herpétique (souche marocaine), par Achille URBAIN et W. SCHAEFFER	369
Sur la teneur en zinc des principaux aliments d'origine végétale, par Gabriel BERTRAND et Boje BENZON	386
Note sur les rapports entre la primo-infection et les manifestations cliniques de la tuberculose, par O. SCHEEL (Oslo)	394
La vaccination des nouveau-nés par le BCG d'après les documents de la Commission ukrainienne, par le D ^r IAKHNIS (Kharkoff)	399
Pathogénie des spirochétoses ictérogènes (<i>deuxième mémoire</i>), par le professeur G. SANARELLI et D ^r G. PERGHER	420
Préparation des sérums antigangréneux monovalents avec des toxines formolées, par M. WEINBERG et J. BAROTTE	453
Sur l'antagonisme microbien <i>in-vitro</i> , par V. ZAVAGLIA	537
Ulysse GAYON]	547
Études sur la microbiologie du sol (<i>quatrième mémoire</i>). Sur la dégradation de la cellulose dans le sol, par S. WINOGRADSKY	549
Sur la vaccination du cobaye contre le tétanos par injection intracérébrale d'anatoxine tétanique, par P. DESCOMBEY	634
Action des diastases et des facteurs microbiens solubles sur l'éclosion des œufs durables du moustique de la fièvre jaune. Recherches expérimentales, par E. ROUBAUD et J. COLAS-BELCOUR	644
Du système nerveux dans les tumeurs artificielles, par M. MARULLAZ	656
Les vaccinations antirabiques à l'Institut Pasteur en 1928, par Jules VIALA	668

Étude sur l'encéphalo-myéélite provoquée par le <i>Toxoplasma cuniculi</i> , par C. LEVADITI, en collaboration avec V. SANCHIS-BAYARRI et P. LÉPINE (pour la partie expérimentale) et M ^{lle} R. SCHOEN [pour la partie histologique] (<i>premier mémoire</i>)	673
La fièvre jaune et la sensibilité du <i>Macacus rhesus</i> , par E. MARCHOUX.	737
Étude sur le pouvoir rotatoire et la dispersion rotatoire du sérum en fonction du temps et de la température, par P. LECOMTE DU NOUY.	749
Étude de 50 autopsies d'enfants vaccinés au BCG et morts de maladies non tuberculeuses, par J. ZEYLAND et E. PIASECKA-ZEYLAND.	767
Sur la nature des formes actinomycosiques d'origine bactérienne ou mycosique d'après des expériences réalisées avec des bacilles BCG vivants et tués, par J. ZEYLAND	778
Recherches sur la virulence du bacille Calmette-Guérin, par K.-A. JENSEN, J.-R. MORCH et J. ØRSKOV. . .	785
Résultats de la vaccination intracutanée contre la tuberculose au moyen du BCG, par Arvid WALLGREN. . .	799
Rapport sur 23 enfants prémunis par le BCG, par G. KRIKORK.	809
La vaccination préventive des nouveau-nés contre la tuberculose par le BCG à l'île Maurice (du 23 septembre 1925 au 31 mars 1928), par E. MAYA	812
La vaccination antituberculeuse par le BCG à Madagascar, par G. GIRARD	816
Sur la vaccination humaine contre la tuberculose par le BCG dans la ville de New-York, par le D ^r Camille KERESZTURI et le D ^r William H. PARK	819
Contribution à l'étude de la vaccination antituberculeuse par le BCG, par Herbert BUSCHMANN.	838
Contribution à l'étude des propriétés biologiques du BCG [passages par cobayes] (<i>première note</i>), par les D ^{rs} TOGOUNOVA, MIGOUNOV et BAJDAKOVA	857
Étude expérimentale sur la virulence des cultures de BCG de passage (<i>deuxième note</i>), par les D ^{rs} A.-J. TOGOUNOVA, MIGOUNOV et BAJDAKOVA	867

Rapport de la Commission de l'Alberta (Canada) sur le vaccin BCG (1927-1928), par C. RANKIN	878
Quelques recherches sur le pouvoir protecteur du vaccin BCG contre l'infection expérimentale des bovidés par les bacilles tuberculeux virulents, par Hjalmar FORSSNER, I. JUNDELL et MAGNUSSON.	890
Critique des expériences de Forssner, Jundell et Magnusson, par A. CALMETTE et C. GUÉRIN	905
Pathogénie des spirochétoses ictérogènes (<i>troisième mémoire</i>). Les « crises néfastes » dans les spirochétoses, par le professeur G. SANARELLI et le Dr G. PERGHER (avec planche X)	908
Immunité antitoxique chez les chenilles de <i>Galleria mellonella</i> , par V. CHORINE.	955
Pierre MARIE (Notice nécrologique).	959
Étude d'une toxine végétale : la toxine phallinique, par R. DUJARRIC DE LA RIVIÈRE	961
Recherches expérimentales sur le BCG. Ses propriétés pathogènes et immunisantes, par O. KIRCHNER	989
Vaccinations par le BCG à l'Institut Vital Brazil, Niteroi (Brésil), avril 1929, par A. DE ASSIS	996
Sur la variabilité d'aspect des colonies du BCG (<i>note préliminaire</i>), par E. PIASECKA-ZEYLAND	1002
La vaccination antituberculeuse par le BCG en Afrique Occidentale française, par le Dr COUVY	1006
Emploi de la réaction de Vernes à la résorcine dans le diagnostic de la tuberculose du cobaye, par V. GRYSEZ et A. BRETON	1011
Mécanisme des lésions segmentaires du cerveau et leur rôle dans la pathogénie de certains processus généraux et locaux (<i>première partie</i>), par le Dr A.-D. SPERANSKY	1021
Quelques observations sur la folliculine et l'antipituitrine dans leurs rapports avec les tumeurs, par E. HARDE, P. HENRI et J. BATIER	1046
<i>Vibrio microspira agar-liquefaciens</i> (Gray and Chalmers), par P.-H.-H. GRAY	1058
Remarques sur la précédente note de M. GRAY, par S. WINOGRADSKY	1060

Étude sur l'encéphalo-myélite provoquée par le <i>Toxoplasma cuniculi</i> , par C. LEVADITI, en collaboration avec V. SANCHIS-BAYARRI et P. LÉPINE (pour la partie expérimentale) et M ^{lle} R. SCHOEN [pour la partie histologique] (<i>deuxième mémoire</i>).	1063
La pseudo-tuberculose du dindon, par C. TRUCHE et J. BAUCHE.	1081
Recherches biologiques sur le moustique de la fièvre jaune, <i>Aedes Argenteus</i> Poiret. Facteurs d'inertie et influences réactivantes du développement. Les œufs durables et leur importance dans le rajeunissement du cycle évolutif, par E. ROUBAUD.	1093
La sélection physiologique des ferments par l'alcool, par L. SEMICHON	1210
Four à stériliser automatique, par le D ^r Louis MARMIER	1219
Note additionnelle aux essais de prémunition contre la tuberculose bovine par le BCG, par A. DE ASSIS et O. DUPONT	1223
Sur la vaccination préventive de la tuberculose par injection sous-cutanée de BCG chez les élèves-infirmières de l'hôpital Ulleval, à Oslo (Norvège), par J. HEIMBECK.	1229
Étude des variations leucocytaires chez les enfants vaccinés par le BCG, par Gustavo PITTALUGA et Fernando GARCIA	1233
Injection intracérébrale du virus vaccinal chez le singe. Propriétés de la neurolapine, par H. ALDERSHOFF, A.-B.-F.-A. PONDMAN et A. W. POT (Institut Sérologique de l'État hollandais à Utrecht)	1268
Recherche et numération directe sur milieu solide du <i>B. coli</i> contenu dans un grand volume d'eau, par MM. DIENERT et ETRILLARD	1278
Floculation des sérums en présence de mélanges antigènes-teintures de résines, par R. DUJARRIC DE LA RIVIÈRE, Étienne ROUX, N. KOSSOVITCH	1282
Morphologie, nature et cycle évolutif du microbe de la péripneumonie des bovidés, par le professeur Julien NOWAK.	1330
Chimisme gastrique et infections parasitaires du tube digestif, par R. DESCHIENS	1353

La dissociation des fonctions sexuelles et nutritives (dissociation gono-trophique) d' <i>Anopheles maculipennis</i> comme cause de paludisme dans les Pays-Bas et ses rapports avec « l'infection domiciliaire », par N.-H. SWELLENGREBEL	1370
L'utilisation des microbes dans la lutte contre la pyrale du maïs, par S. MÉTALNIKOV et V. CHORINE	1391
L'évolution du parasite de la rage comporte-t-elle un cycle? par P. REMLINGER et J. BAILLY	1396
Recherches sur le charbon symptomatique et le <i>B. chauvoei</i> , par MM. WEINBERG et M. MIHAILESCO	1408
Mécanisme pathogénique des formations cavitaires du névraxe : porencéphalie et syringomyélie, par C. LEVADITI et P. LÉPINE, en collaboration avec M ^{lle} R. SCHOEN (partie histologique)	1465
Au sujet du mémoire de MM. Aldershoff, Pondman et Pot : « Injection intracérébrale du virus vaccinal chez le singe », par C. LEVADITI	1512
Mécanisme des lésions segmentaires du cerveau et leur rôle dans la pathogénie de certains processus généraux et locaux, par le D ^r A.-D. SPERANSKY	1516
Au sujet de la péripneumonie des bovidés, par le professeur Julien NOWAK	1541
La rage du pigeon, par REMLINGER et BAILLY	1543
Recherches sur l'immunisation contre la peste porcine, par DONATIEN et LESTOQUARD	1560
Études sur la floculation des mélanges de toxine et d'antitoxine tétaniques, par DARZINE	1599
Le <i>Streptococcus longissimus</i> , son pouvoir pathogène pour l'homme, par JOANNIDÈS	1630
Contribution à l'étude de l'antivirus. Immunisation locale du poulain vis-à-vis du streptocoque, par KANDIDA et SADOVSKY	1637
Les animaux de laboratoire porteurs de streptocoques et de bacilles tuberculeux. Matériaux pour l'étude des microbes desortie, par ZLATOGOROFF, PALANTE et KOCHKINE	1645
Nouveaux microbes pathogènes pour les chenilles de la pyrale du maïs, par V. CHORINE	1657

TABLE ALPHABÉTIQUE PAR NOMS D'AUTEURS

ALDERSHOFF (H.), PONDMAN (A.-B.-F.-A.) et POT (A.-W.).	Injection intracérébrale du virus vac- cinal chez le singe. Propriétés de la neurolapine.	1268
ASSIS (A. DE)	Vaccinations par le BCG à l'Institut Vital Brazil, Niteroi (Brésil), avril 1929	996
ASSIS (A. DE) et DUPONT (O.).	Note additionnelle aux essais de pré- munition contre la tuberculose bo- vine par le BCG	1223
BAILLY (J.)	Voir Remlinger.	
BAJDAKOVA	Voir Togounova.	
BAROTTE (J.).	Voir Weinberg.	
BATIER (J.).	Voir Harde (E.).	
BAUCHE (J.).	Voir Truche (C.).	
BENZON (Boje).	Voir Bertrand.	
BERTRAND (G.) et BENZON (Boje)	Sur la teneur en zinc des principaux aliments d'origine végétale	386
BILTRIS (Dr R.)	Sur la variabilité des caractères de l'espèce chez les dermatophytes . .	281
BRETON (A.).	Voir Grysez (V.).	
BUSCHMANN (Herbert). . . .	Contribution à l'étude de la vaccina- tion antituberculeuse par le BCG . .	838
CALMETTE (A.) et GUÉRIN (C.).	Critique des expériences de Forssner, Jundell et Magnusson	905
CHORINE (V.)	Voir Métalnikov.	
—	Immunité antitoxique chez les che- nilles de <i>Galleria mellonella</i>	935
—	Nouveaux microbes pathogènes pour les chenilles de la pyrale du maïs. .	1657
CIUCA (M.), FRANCKE (M.) et VITNER-ROSENTHAL (Z.). . .	Au sujet de la vaccination BCG et de son innocuité.	168
COLAS-BELGOUR (J.).	Voir Roubaud (E.)	
COUVY (Dr)	La vaccination antituberculeuse par le BCG en Afrique occidentale fran- çaise.	100b

DARZINE.	Études sur la floculation des mélanges de toxine et d'antitoxine tétaniques.	1599
DESCHIENS (R.)	Chimisme gastrique et infections parasitaires du tube digestif	1353
DESCOMBREY (P.)	Sur la vaccination du cobaye contre le tétanos par injection intracérébrale d'anatoxine tétanique	634
DIENERT et ETRILLARD	Recherche et numération directe sur milieu solide du <i>B. coli</i> contenu dans un grand volume d'eau	1278
DIMANESCO-NICOLAU (M ^{me} O.).	Voir Nicolau (S.).	
DONATIEN et LESTOQUARD	Recherches sur l'immunisation contre la peste porcine	1560
DUFRENOY (J.)	Étude cytologique des rapports entre parasite et cellule végétale	218
DUJARRIC DE LA RIVIÈRE (R.).	Étude d'une toxine végétale : la toxine phallinique	961
DUJARRIC DE LA RIVIÈRE (R.), Roux (Etienne) et Kossowitch (N.).	Floculation des sérums en présence de mélanges antigènes-teintures de résines	1282
DUPONT (O.).	Voir de Assis (A.).	
ETRILLARD et DIENERT	Voir Dienert.	
FORSSNER (H.), JUNDÉLL (I.) et MAGNUSSON (H.).	Quelques recherches sur le pouvoir protecteur du vaccin BCG contre l'infection expérimentale des bovidés par les bacilles tuberculeux virulents.	890
FRANCKE (M.).	Voir Ciuca (M.).	
FRASER (M ^{lle} C. J.).	Voir Moloney (P.-J.).	
FRASER (D.-T.).	Voir Moloney (P.-J.).	
GALLOWAY (I.-A.).	Voir Nicolau (S.).	
GARCIA (Fernando).	Voir Pittaluga (Gustavo).	
GIRARD (G.).	La vaccination antituberculeuse par le BCG à Madagascar.	816
GOURNAY (J.-J.).	Voir Lereboullet.	
GRAY (P.-H.-H.).	<i>Vibria microspira agar-liquefaciens</i> (Gray and Chalmers).	1058
GRYSEZ (V.) et BRETON (A.).	Emploi de la réaction de Vernes à la résorcine dans le diagnostic de la tuberculose du cobaye	1101
GUÉRIN (C.).	Voir Calmette (A.).	
HARDE (E.), HENRI (P.) et BATIER (J.).	Quelques observations sur la folliculine et l'antipituitrine dans leurs rapports avec les tumeurs	1046

TABLE ALPHABÉTIQUE PAR NOMS D'AUTEURS

1689

HEIMBECK (J.)	Sur la vaccination préventive de la tuberculose par injection sous-cutanée de BCG chez les élèves-infirmières de l'hôpital Ulleval, à Oslo (Norvège)	1229
HENRI (P.)	Voir Harde (E.)	
IAKHNIS, I.	La vaccination des nouveau-nés par le BCG d'après les documents de la Commission ukrainienne	399
JOANNIDÈS	Le streptococcus longissimus, son pouvoir pathogène sur l'homme	1630
JENSEN (K.-A.), MÖRCH (J.-R.) et ORSKOV (J.)	Recherches sur la virulence du bacille Calmette-Guérin	785
JUNDELL (J.)	Voir Forssner (Hjalmar)	
KANDIDA et SADOVSEY	Contribution à l'étude de l'antivirus. Immunisation locale du poulain vis-à-vis du streptocoque	1637
KERESZTURI (Dr Camille) et PARK (Dr William H.)	Sur la vaccination humaine contre la tuberculose par le BCG dans la ville de New-York	819
KIRCHNER (O.)	Recherches expérimentales sur le BCG. Ses propriétés pathogènes et immunisantes	989
KOCHKINE	Voir Zlatogoroff	
KOSSOVITCH (N.)	Voir Dujarric de la Rivière	
KRIKORK	Rapport sur 23 enfants prémunis par le BCG	809
LECOMTE DU NOUY (P.)	Étude sur le pouvoir rotatoire et la dispersion rotatoire du sérum en fonction du temps et de la température	749
LÉPINE (P.)	Voir Levaditi (C.)	
LEREBOULLET et GOURNAY (J.)	L'immunisation antidiphtérique par l'anatoxine à l'hôpital des Enfants-Malades (organisation et fonctionnement d'un centre de prophylaxie antidiphtérique)	181
LESTOQUARD	Voir Donatien	
LEVADITI (C.), SANCHIS-BAYAR- RI (V.), LÉPINE (P.) et SCHOEN (M ^{lle} R.)	Étude sur l'encéphalo-myélite provoquée par le <i>Toxoplasma cuniculi</i>	673
LEVADITI (C.)	Au sujet du mémoire de MM. Aldershoff, Pondman et Pot : « Injection intracérébrale du virus vaccinal chez le singe	1512

LEVADITI (C.), LÉPINE (P.) et SCHOEN (M ^{lle} R.)	Mécanisme pathogénique des forma- tions cavitaires du névraxe : porencé- phalie et syringomyélie	1465
LEVADITI (C.), SANCHIS-BAYAR- RI (V.), LÉPINE (P.) et SCHOEN (M ^{lle} R.)	Étude sur l'encéphalo-myélite pro- voquée par le <i>Toxoplasma cuniculi</i> (deuxième mémoire).	1063
MAGNUSSON (H.)	Voir Forssner Hjalmar.	
MANICATIDE (M.)	Voir Marinesco.	
MARCHOUX (E.)	La fièvre jaune et la sensibilité du <i>Ma- cacus rhesus</i>	737
MARINESCO, MANICATIDE (M.) STATR-DRAGANESCO	Étude clinico-thérapeutique et ana- tomo-pathologique sur l'épidémie de paralysie infantile qui a sévi en Roumanie pendant l'année 1927	223
MARMIER (D ^r Louis)	Four à stériliser automatique	1219
MARULLAZ	Du système nerveux dans les tumeurs artificielles	656
MAYA (E.)	La vaccination préventive des nouveaunés contre la tuberculose par le BCG à l'île Maurice (du 23 septembre 1925 au 31 mars 1928).	812
MÉTALNIKOV (S.) et CHORINE (V.)	Maladies microbiennes chez les chenilles de <i>Pyrausta nubilalis</i> (deuxième mémoire)	136
—	L'utilisation des microbes dans la lutte contre la pyrale du maïs.	1391
MIGOUNOY	Voir Tougounova.	
MIHAILESCO (M.)	Voir M. Weinberg.	
MOLONEY (P. J.) et FRASER (M ^{lle} C.-J.)	Effet de l'immunité passive sur l'im- munisation active par l'anatoxine diphtérique	129
MOLONEY (P.-J.), FRASER (D.-T.) et FRASER (M ^{lle} C.-J.)	Immunisation contre la diphtérie au moyen de l'anatoxine	124
MÖRCH (J.-R.)	Voir Jensen (K.-A.).	
NICOLAU (S.), DIMANESCO- NICOLAU (M ^{me} O.) et GAL- LOWAY (I.-A.)	Étude sur les septinévrites à ultravirus neurotropes.	1

TABLE ALPHABÉTIQUE PAR NOMS D'AUTEURS

1691

NOWAK (J.)	Morphologie, nature et cycle évolutif du microbe de la péripneumonie des bovidés	1330
—	Au sujet de la péripneumonie des bovidés	1541
ORSKOV (J.)	Voir Jensen (K.-A.).	
PALANTE	Voir Zlatogoroff.	
PARK (Dr William H.) . . .	Voir Kereszturi (Dr Camille).	
PERGHER (Dr G.)	Voir Sanarelli (G.).	
PIASECKA-ZEYLAND (E.) . . .	Voir Zeyland (J.).	
—	Sur la variété d'aspect des colonies du BCG (<i>note préliminaire</i>).	1002
PITTALUGA (Gustavo) et GARCIA (F.)	Étude des variations leucocytaires chez les enfants vaccinés par le BCG. . .	1233
PONDMAN (A.-B.-F.-A.) . . .	Voir Aldershoff (H.).	
POT (A.-W.)	Voir Aldershoff (H.).	
RANKIN (C.)	Rapport de la Commission de l'Alberta (Canada) sur le vaccin BCG (1927-1928)	878
REMLINGER (P.) et BAILLY (J.)	La rage du coq	153
—	L'évolution du parasite de la rage comporte-t-elle un cycle?	1396
—	La rage du pigeon	1543
ROUBAUD (E.)	Recherches biologiques sur le moustique de la fièvre jaune <i>Aedes argenteus</i> Poiret. Facteurs d'inertie et influences réactivantes du développement. Les œufs durables et leur importance dans le rajeunissement du cycle évolutif.	1093
ROUBAUD (E.) et COLAS-BELCOUR (J.)	Action des diastases et des facteurs microbiens solubles sur l'éclosion des œufs durables du moustique de la fièvre jaune. Recherches expérimentales	644
ROUX (Etienne)	Voir Dujarric de la Rivière.	
SADOVSKY	Voir Kandida.	
SANARELLI (G.) et PERGHER (Dr G.)	Pathogénie des spirochétoses ictérogènes (<i>premier mémoire</i>). Spirochétoses et microbes de sortie.	89
—	Pathogénie des spirochétoses ictérogènes (<i>deuxième mémoire</i>).	420
—	Pathogénie des spirochétoses ictérogènes (<i>troisième mémoire</i>). Les « crises néfastes » dans les spirochétoses . .	908

SANCHIS-BAYARRI (V.)	Voir Levaditi (C.).	
SCHAEFFER (W.)	Voir Urbain (Achille).	
SCHEEL (O.)	Note sur les rapports entre la primo-infection et les manifestations cliniques de la tuberculose.	394
SCHOEN (M ^{lle} R.)	Voir Levaditi (C.).	
SEMICHON (L.)	La sélection physiologique des ferments par l'alcool.	1210
SIGAUD	Ultrafiltration, dialyse, osmométrie au moyen de sacs en collodion.	190
SPERANSKY (D ^r A.-D.)	Mécanisme des lésions segmentaires du cerveau et leur rôle dans la pathogénie de certains processus généraux et locaux (<i>première partie</i>).	1024
	Mécanisme des lésions segmentaires du cerveau et leur rôle dans la pathogénie de certains processus généraux et locaux (<i>deuxième partie</i>).	1516
STATE-DRAGANESCO.	Voir Marinesco.	
SWELLENGREBEL (N.-H.)	La dissociation des fonctions sexuelles et nutritives (dissociation gonotrophique) d' <i>Anopheles maculipennis</i> comme cause du paludisme dans les Pays-Bas et ses rapports avec « l'infection domiciliaire ».	1370
TOGOUNOVA, MIGOUNOV et BAJDAKOVA	Contribution à l'étude des propriétés biologiques du BCG [passages par cobayes] (<i>première note</i>).	857
—	Contribution à l'étude des propriétés biologiques du BCG de passage (<i>deuxième note</i>).	867
TRUCHE (C.) et BAUCHE (J.)	La pseudo-tuberculose du dindon.	1084
URBAIN (Ach.) et SCHAEFFER (W.)	Contribution à l'étude expérimentale d'un virus herpétique (souche marocaine).	369
VIALA (J.)	Les vaccinations antirabiques à l'Institut Pasteur en 1928.	668
VITNER-ROSENTHAL (Z.)	Voir Ciuca (M.).	
WALLGREN (Arvid)	Résultats de la vaccination intracutanée contre la tuberculose au moyen du BCG.	799
WEINBERG et BAROTTE (J.)	Préparation des sérums antigangreneux monovalents avec des toxines formolées.	433

WEINBERG (M.) et MIHAI-LESCO (M.)	Recherches sur le charbon symptomatique et le <i>B. chauvoei</i>	1408
WINOGRADSKY (S.)	Études sur la microbiologie du sol (<i>quatrième mémoire</i>). Sur la dégradation de la cellulose dans le sol	549
—	Remarques sur la précédente note de M. Gray.	1060
WOLLMAN (E.)	Quelques considérations sur la bactériophagie (théorie de l'autolyse et théorie des facteurs héréditaires).	359
ZAVAGLI (V.)	Sur l'antagonisme microbien <i>in vitro</i>	537
ZEYLAND (J.)	Sur la nature des formes actinomycosiques d'origine bactérienne ou mycosique d'après des expériences réalisées avec des bacilles BCG vivants et tués	778
ZEYLAND (J.) et PIASECKA-ZEYLAND	Étude de 50 autopsies d'enfants vaccinés au BCG et morts de maladies non tuberculeuses.	767
ZLATOGOROFF, PALANTE et KOCHKINE.	Les animaux de laboratoire porteurs de streptocoques et de bacilles tuberculeux. Matériaux pour l'étude des microbes de sortie.	1645

Le Gérant : G. MASSON.

